Année 1942

N° d'ordre :
1

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ D'ALGER

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ES-SCIENCES NATURELLES

PAR

HAMON Maryvonne

Assistante à la Faculté des Sciences d'Alger

née le 16 Mars 1902 à Neuilly sur Seine (Seine)

1re THÈSE. — RECHERCHES SUR LES SPERMATOPHORES

2me THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

Soutenues le *devant la Commission d'examen*

MEMBRES DU JURY

MM. ROSE ..... Président

Dr. BENOIT .....
BERNARD ..... } Examinateurs
GAUTHIER .....

IMPRIMERIE POLYGLOTTE AFRICAINE

Maison-Carrée (Alger)

1942

Année 1942

N° d'ordre : 1

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ D'ALGER

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ES-SCIENCES NATURELLES

PAR

HAMON Maryvonne

Assistante à la Faculté des Sciences d'Alger

née le 16 Mars 1902 à Neuilly sur Seine (Seine)

1re THÈSE. — RECHERCHES SUR LES SPERMATOPHORES

2me THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

Soutenues le *devant la Commission d'examen*

MEMBRES DU JURY

MM. ROSE ..... Président

Dr. BENOIT ..... } Examinateurs
BERNARD ..... }
GAUTHIER ..... }

IMPRIMERIE POLYGLOTTE AFRICAINE

Maison-Carrée (Alger)

1942

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

UNIVERSITÉ D'ALGER

FACULTÉ DES SCIENCES

Doyen	MM.	Royer
Assesseur		Vérain
Secrétaire		Soléra

PROFESSEURS

Mathématiques	M.M.	Bourion
Mécanique rationnelle et appliquée		de Possel
Astronomie et Astrophysique		Meyer
Physique générale		Henriot
Physique industrielle		Vérain
Chimie générale		Rollet
Chimie appliquée		Guntz
Biologie générale et appliquée		Rose
Botanique générale et appliquée		Maire
Géologie et Minéralogie		Savornin
Minéralogie et Cristallographie		Royer
Zoologie Générale		Bernard
Géologie appliquée à l'Agriculture et à l'Industrie		N....

PROFESSEUR A TITRE PERSONNEL

Botanique agricole	Killian

PROFESSEUR SANS CHAIRE

Physique (P.C.B.)	Mendousse

MAITRE DE CONFÉRENCES

Mathématiques générales (Chargé de cours) .	Dugué
Chimie (P.C.B.)	Berlande
Biologie Animale (P.C.B.)	Gauthier

MAITRE DE CONFÉRENCES ADJOINT

Chimie appliquée	Sirot

HONORARIAT

M.M.	**Rouyer,**	Doyen et professeur
	Muller,	Professeur
	Foix,	Professeur
	Seurat,	Professeur

AVANT-PROPOS

Je dois à mon Maître, Monsieur le Professeur ROSE, d'avoir poursuivi ce travail auquel il m'avait associée dans des recherches préliminaires. Je voudrais lui exprimer ici toute ma respectueuse gratitude pour l'aide qu'il n'a cessé de m'apporter au cours de ces recherches poursuivies à ses côtés, en majeure partie dans son laboratoire. Ses conseils, ses critiques et ses encouragements ne m'ont jamais fait défaut et ont été précieux pour moi lors des déceptions que m'ont souvent causées les résultats que j'obtenais. Je le prie d'agréer tous mes remerciements et l'expression de ma profonde reconnaissance.

Ma gratitude s'adresse aussi très particulièrement à M. le Professeur DUBOSCQ, qui m'a reçue au Laboratoire ARAGO de Banyuls-sur-mer, lorsqu'il en était le Directeur, et qui m'a permis de profiter de toutes les ressources que présente cette station maritime, pendant les séjours que j'y fis en 1935, 1936, 1937. Je remercie cordialement Mlle TUZET, Maître de Conférences à Montpellier, alors chef de travaux à Banyuls, pour l'accueil très amical qu'elle m'a toujours réservé et qui n'a pas peu contribué à y rendre mes séjours profitables. J'adresse également mes remerciements à M. le Professeur CHATTON, Directeur du Laboratoire Arago, pour avoir bien voulu me recevoir et me faciliter l'obtention du matériel que je désirais, lors d'un bref passage en 1939.

Il m'est agréable d'exprimer ma reconnaissance à M. le Doyen ROYER et à M. le Professeur GUNTZ pour m'avoir permis de faire des examens et des mesures à l'aide de leurs appareils et dans leur laboratoire.

Je remercie également M. le Dr. DIEUZEIDE, Chef de travaux, Directeur de la Station d'Aquiculture et de Pêches de Castiglione pour m'avoir, à diverses reprises, procuré du matériel d'étude.

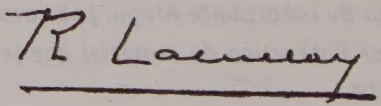
Monsieur le Professeur GIBERTON a bien voulu examiner la partie de ce travail relative à la constitution chimique de mon matériel et m'aider de ses conseils éclairés ; qu'il veuille bien accepter l'hommage de ma profonde gratitude.

Je tiens aussi à exprimer mes sentiments les plus respectueux à M. le Professeur BENOIT, à M. le Professeur BERNARD et à Monsieur GAUTHIER, Maître de Conférences, qui me font l'honneur d'accepter de juger ma thèse aux côtés de M. le Professeur ROSE.

Je remercie la Caisse des Recherches Scientifiques, à laquelle je suis redevable de m'avoir accordé une bourse de stage pendant trois années consécutives, et contribué à l'impression de ce travail.

Le Conseil de l'Université d'Alger a bien voulu accorder les crédits nécessaires à la publication de mon mémoire. Je tiens à dire ici toute ma reconnaissance pour son geste généreux.

Je ne saurais non plus oublier de rendre un hommage ému à la mémoire de M. le Professeur DANTAN qui me fit venir comme assistante dans son service et m'accueillit à Alger avec une grande bienveillance.



Recherches sur les Spermatophores

INTRODUCTION

On connaît d'assez nombreux Invertébrés qui enferment leur sperme aggloméré dans des réservoirs appelés spermatophores, façonnés à l'intérieur de leur tractus génital. Ces appareils, transportés sur la femelle au moment de l'accouplement, s'ouvrent plus ou moins tôt, en libérant les gamètes qui assureront la fécondation.

Les mieux étudiées, comme aussi les plus complexes, parmi ces productions, sont celles des Céphalopodes et des Crustacés Décapodes Anomoures.

Les spermatophores de ces derniers sont relativement bien connus en ce qui concerne leur structure générale ; leurs modes d'élaboration et de transport sur l'individu femelle. Ils ont été l'objet des études détaillées publiées par S. Mouchet (1931) et par F. Bloch (1937) qui résument, en outre, les données acquises précédemment. Néanmoins, tout ce qui a trait à ces organites n'est point éclairci. En particulier, les mécanismes de leur déhiscence demeuraient encore obscurs ; leur composition chimique : l'origine cellulaire précise de leurs constituants étaient inconnus.

Dans le groupe des Céphalopodes, les spermatophores ont été l'objet de multiples recherches depuis que, il y a un siècle, Milne Edwards (1842) donnait la première description précise de ces appareils chez quelques espèces, et les examinait successivement sous les aspects statique et dynamique. Mais les travaux des auteurs ont porté surtout sur la morphologie, le mode de formation dans les voies génitales et la physiologie dans les conditions naturelles, de ces productions. C'est ainsi que le déterminisme du fonctionnement des appareils spermatiques de la plupart des espèces vivant sur nos côtes ont été élucidés.

Dans l'un des plus récents mémoires sur les spermatophores de Céphalopodes, Weill (1927) montre tout l'intérêt présenté par ces productions quand il les définit : « des appareils d'origine animale, constitués de substances non vivantes, capables d'exécuter une seule fois, indépendamment de tout élément vivant et même en dehors de l'organisme qui les a produits, un mouvement bien déterminé, consistant en une dévagination suivie de l'éjaculation du contenu de l'appareil. »

Mais, en exceptant quelques essais effectués par Mouchet et par Bloch chez les Anomoures et par Racovitza (1894), Weill et Fort (1937) chez les Céphalopodes, la nature et les propriétés physico-chimiques des substances anhistes qui constituent

les spermatophores dans les deux groupes n'ont pas attiré l'attention spéciale des chercheurs. Ces lacunes proviennent sans doute de ce que les problèmes posés par le fonctionnement des spermatophores dans ces deux groupes sont parmi les plus variés et les plus compliqués. En fait, les conditions physiologiques qui interviennent lors de la déhiscence naturelle des ampoules spermatiques des Anomoures n'ont pas encore été élucidées. C'est pour cette raison, qu'ayant voulu compléter nos connaissances, nous avons limité nos recherches aux appareils spermatiques des espèces les plus communes de Pagurides et de Céphalopodes.

Les problèmes que nous nous proposons de travailler dans ce mémoire portent donc, d'une part, sur la nature chimique des constituants anhistes des appareils et d'autre part, sur les propriétés de ces corps lorsqu'ils sont placés dans certaines conditions expérimentales. Nous avons voulu comparer les spermatophores des Crustacés et des Mollusques, appareils dont l'origine est semblable et qui ont un même rôle à assumer dans la dissémination des gamètes. Nous l'avons fait dans la mesure où notre matériel s'y prêtait, et dans les limites des moyens qui étaient à notre disposition au Laboratoire. Comme matériel d'étude nous avons recouru aux quelques espèces faciles à obtenir en assez grand nombre à Alger ou à Banyuls-sur-mer. Cependant, l'absence à Alger du Paguride *Eupagurus prideauxi*, dont nous avions choisi le spermatophore comme type, à cause de sa structure simple, a empêché que nous puissions contrôler certains résultats par de nouvelles expériences sur des animaux frais.

Le plan suivant a été suivi dans l'exposé de nos résultats :

La première partie traite des spermatophores de quelques Crustacés du groupe des Pagurides. Elle comporte quatre chapitres, dont les deux premiers sont consacrés à l'appareil d'*E. prideauxi*, pris comme type caractéristique du groupe et envisagé des points de vue statique et dynamique.

Dans le troisième chapitre, les productions de quelques autres Pagures sont examinées sous les mêmes aspects.

Dans un quatrième chapitre nous recherchons l'origine des constituants des spermatophores d'*E. prideauxi* lors de leur formation dans le conduit génital. Bien que Mouchet ait étudié l'histologie du conduit déférent de ce Pagure, il nous a paru utile d'effectuer un examen plus approfondi des phénomènes cytologiques qui aboutissent à l'élaboration de ces appareils spermatiques. Nous désirions établir, dans la mesure du possible, les liens qui unissent la sécrétion originelle, les substances définitives du spermatophore et leurs propriétés déterminées expérimentalement.

La deuxième partie porte sur les productions spermatiques des Céphalopodes, vues successivement sous les mêmes angles de la morphologie, de la constitution chimique et de la physiologie.

La troisième partie contient des considérations générales sur les spermatophores

des deux groupes. Nous faisons d'abord une comparaison entre ces productions envisagées des différents points de vue examinés au cours des deux premières parties ; puis nous étudions leur origine, leur rôle et leur distribution dans la série zoologique. Enfin, nous établissons un rapprochement entre ces organes, élaborés par les voies génitales mâles et les substances protectrices de l'œuf, fournies par le tractus sexuel femelle.

Pour conclure, après un bref résumé, nous essayons de dégager les données d'ordre plus général que l'on peut tirer de cet exposé.

PREMIERE PARTIE

Le Spermatophore des Pagurides

CHAPITRE I

Le Spermatophore d'Eupagurus Prideauxi Leach à l'état statique.

I. MORPHOLOGIE GÉNÉRALE.

Le première description détaillée des spermatophores de ce Pagure est due à S. MOUCHET (1931). La figure 1. A. donne, d'après cet auteur, la morphologie de cet appareil.

Le spermatophore d'*E. prideauxi* comprend le *réservoir spermatique* ou *ampoule a*, en forme de cône allongé, supporté par un petit piédestal aplati et adhésif : l'*embase e*. L'ampoule est constituée par la masse des spermies enveloppée dans une coque transparente. Le *pied p* est un prolongement lamellaire de la coque, d'abord plus étroit qu'elle, puis élargi en une plaque basale qui se soude à l'embase.

La coque fournit, au niveau du pied, un petit diverticule creux : le *réservoir accessoire r.a.*, contenant généralement quelques spermies.

En réalité, la structure est un peu plus complexe, comme nous l'avons montré en 1937. En effet, la coque est formée de deux valves longitudinales appliquées l'une contre l'autre et soudées par un ciment. La suture peut se voir par une observation minutieuse sur le frais ; elle devient très nette par l'action du bleu de toluidine qui montre que les deux valves forment une sorte de bourrelet à leur bord libre, ces bourrelets étant réunis par le ciment qui se teinte vivement par le bleu (Pl. I fig. 1). La figure I. B. montre le spermatophore comme il est réellement constitué ; la figure I. C. est une coupe transversale de l'appareil spermatique montrant la jonction des deux valves.

Les dimensions des spermatophores varient selon la taille des individus qui les fournissent et parfois, chez le même individu, suivant les différentes régions du canal déférent terminal. La longueur totale des appareils provenant de mâles de grandeur moyenne est d'environ 380 μ ; la largeur maximum, mesurée par le travers d'une valve est de 70 à 80 μ. La longueur de l'embase varie de 110 à 160 μ pour les spermatophores d'un même pagure, observés dans l'eau de mer.

Examinés par transparence dans le canal déférent, ou sortis à sec, les spermatophores sont clairs, un peu hyalins surtout dans la région ampullaire. Vus en lumière

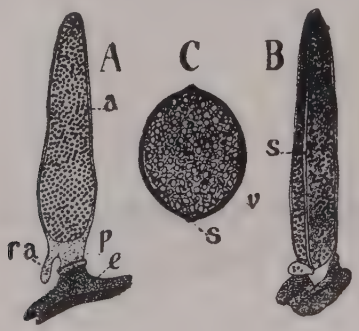


Fig. I. A. Spermatophore d'*Eupagurus prideauxi* d'après MOUCHET.
a : ampoule ; *p* : pied ; *e* : embase ; *ra* : réservoir accessoire.
B. Spermatophore montrant la ligne de suture : *s*. G = 90.
C. Section transversale du même. *s* : suture ; *v* : valve. G. = 200.

réfléchie ils sont blancs, et l'embase est nettement plus opaque que l'ampoule. Observés en lumière de WOOD les spermatophores frais ou traités pendant deux heures par le formol à 3 % ne montrent aucune fluorescence. Mais s'ils ont séjourné un minimum de vingt-quatre heures dans l'aldéhyde formique, il apparaît une vive fluorescence secondaire violacée de l'ampoule seule, les embases restant obscures.

Dans le canal déférent les spermatophores sont noyés dans un mucus sécrété par les parois du conduit. Ce mucus forme une gelée un peu fluide, dont la viscosité ne peut être évaluée, à cause de sa minime quantité. Il est facilement soluble dans l'eau distillée, l'eau de mer, les solutions alcalines.

Structure interne.

L'ampoule est remplie par les spermies baignant dans un liquide légèrement visqueux, transparent, qui est un sol colloïdal, facilement coagulable sous l'influence de divers facteurs chimiques. Il possède la propriété de se gonfler par imbibition et peut atteindre ainsi un volume environ quatre fois plus grand que dans le conduit déférent.

La coque est un gel colloïdal plus rigide que dans les autres régions. Elle est aussi susceptible de se gonfler en s'imbibant d'eau. Son élasticité est nulle ou très faible, de sorte qu'elle ne résiste pas à la traction et se déchire si on la tire à l'aide d'aiguilles.

L'embase est également un gel constitué par une matière blanche, opaque dans l'eau de mer et le canal déférent, diffluant facilement sous l'influence de certains réactifs. Sa substance est très élastique et peut être tirée jusqu'à six ou huit fois sa longueur primitive sous l'effet de tractions mécaniques. Dès que cet étirement cesse, elle reprend sa taille initiale. L'embase possède la propriété d'adhérer aux surfaces, surtout dans certains milieux comme l'eau de mer ou les solutions salines, qui accroissent sa viscosité. Cette particularité permet la fixation très solide des spermatophores aux téguments du Pagure femelle. Le support de l'appareil spermatique est aussi susceptible, en particulier dans les solutions alcalines, de s'imbiber d'eau et d'augmenter de volume ; il peut alors devenir complètement transparent et se comporter à cet égard comme de l'albumine coagulée placée dans les mêmes conditions.

Pression à l'intérieur du spermatophore et dans le mucus du canal déférent.

L'appareil spermatique apparaît ainsi comme un système colloïdal complexe, possédant, entre autres propriétés, une tension interne propre. Nous appliquons aux spermatophores les termes de « tension interne » dans le sens que leur attribue P. Thomas (Biochimie, 1936, p. 171) quand il s'agit de la cellule. Il définit la tension interne comme étant « la somme de la pression osmotique et de la pression de gonflement (ou de turgescence) comptées ensemble puisqu'il n'est pas possible de les séparer ». Freundlich (1932), Pauli (1933) et d'autres, sont du même avis. J. Loeb (1921), par contre, considère que la pression de gonflement s'identifie à la pression osmotique.

Cette tension à l'intérieur du spermatophore est difficilement mesurable. Nous n'avons pas essayé de la déterminer à l'aide de l'hématocrite de Hedin. La méthode est basée sur la mesure du volume occupé par des cellules libres dans des solutions de concentrations connues d'une substance pour laquelle les cellules sont imperméables. La tension interne des cellules considérées est alors légèrement supérieure à celle de la solution dans laquelle elles commencent à perdre de l'eau. L'application de cette technique aux spermatophores serait pratiquement inopérante à cause de la présence inévitable de l'embase, sujette à variations et de la grande perméabilité de la coque, d'où la difficulté de trouver une solution ne la traversant pas. Il y a toujours un gonflement ou une coagulation rapide du contenu par les diverses substances que l'on emploie.

On peut, toutefois, tenter d'évaluer la tension intérieure du spermatophore d'une façon indirecte. Elle est, en effet, la résultante de la pression des spermies, d'une part, et de celle du colloïde qui les enrobe, d'autre part. Il est nécessaire d'envisager surtout la première qui peut être étudiée séparément ; elle s'équilibre avec celle du colloïde ambiant, dans l'ampoule.

On sait que les spermies de Crustacés Décapodes sont d'un type aberrant particulier : leur noyau se trouve refoulé à un pôle de la cellule par une vésicule d'origine vacuolaire, formée au sein du cytoplasme (fig. 2. A.). Le pôle vésiculaire constitue la capsule, complètement extérieure au noyau, du moins chez les Décapodes Macroures et Anomoures.

On peut constater qu'il existe une certaine pression à l'intérieur de cette capsule lorsque sa dévagination a lieu dans des conditions externes définies. La « substance intracapsulaire » des auteurs sort, fortement gonflée par la brusque imbibition d'eau (fig. 2, B). C'est ce qu'ont montré, entre autres, les recherches de Koltzoff (1906), Bindford (1913), de Susaeta (1926) sur les spermies de *Carcinus maenas*, et de F. Bloch (1936) sur les gamètes mâles de *Diogenes pugilator*.

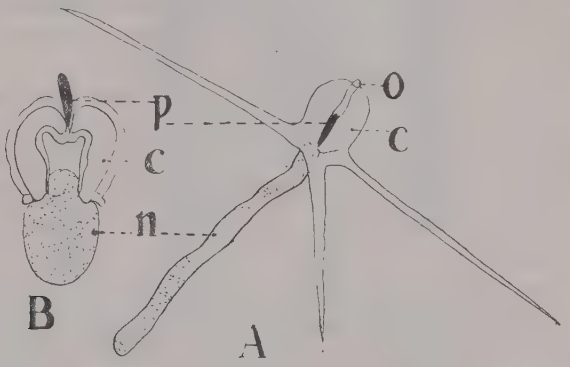


Fig. 2. A. Spermatozoïde intact de Paguride. G = 1730
B. Spermatozoïde dévaginé. G = 1730. *c* : capsule ; *n* : noyau ; *o* : opercule ; *p* : percuteur.

Est-il possible d'évaluer cette tension à l'intérieur de la capsule des spermatozoïdes ?

Les expériences des différents auteurs ont établi que les solutions hypotoniques, par rapport à l'eau de mer, agissaient invariablement pour déclencher la déhiscence de la capsule de la spermie. A ce moment, la tension interne surpasse la pression osmotique du liquide extérieur, additionnée de la pression de résistance à l'ouverture, opposée par l'opercule de la capsule. Susaeta (1927) établit que la dévagination se fait pour une concentration de 7 à 9 pour mille de chlorure de sodium dans l'eau distillée. Or, la pression osmotique correspondant à une telle concentration est de 4, 6 à 6, 7 atmosphères à 20°. La dévagination ménagée, étudiée par F. Bloch montre qu'on peut ralentir la déhiscence jusqu'à l'arrêt complet à n'importe quel stade, en faisant agir très progressivement une solution saline de plus en plus diluée. La pression osmotique de la solution semble complètement compenser la tension à l'intérieur du spermatozoïde, la résistance opposée par l'opercule y intervenant pour une très faible part. C'est une tension de l'ordre de grandeur de celle que l'on trouve pour des cel-

lules animales (8 atm. pour les globules rouges à 37°, d'après HEDIN, in LAMBLING, 1921). Elle est nettement inférieure à la pression osmotique du milieu intérieur (liquide de la cavité générale) des Crustacés marins (*Maia squinado*) qui équilibre celle de l'eau de mer, dont la valeur est voisine de 28 atmosphères (THOMAS, 1936 ; LAMBLING, 1921) ; (1) mais elle se rapproche de la pression osmotique de la même humeur chez *Astacus fluviatilis* qui est de 9,6 atmosphères.

La tension du colloïde autour des spermies a une valeur égale ou supérieure à celle de ces éléments, puisqu'ils y sont invaginés, sans déformation. On peut admettre que la tension générale à l'intérieur du réservoir spermatique soit à peu près uniformément répartie entre les deux constituants qui y sont enfermés.

Normalement, dans le canal déférent, il ne semble pas y avoir d'échange entre l'ampoule et le mucus environnant ; un état d'équilibre paraît être atteint de chaque côté de la membrane formée par la coque, qui demeure imperméable aux grosses molécules colloïdales situées de part et d'autre de la paroi. On ne peut mesurer directement la pression de ce mucus, à cause de sa faible quantité. Il est cependant possible de vérifier qu'elle est voisine de la tension interne du spermatophore, quoique très légèrement inférieure, lorsqu'on coupe, avec des aiguilles, le réservoir placé dans ce mucus : le contenu s'écoule sans brusquerie, et se mèle au colloïde ambiant.

Nous pensons donc que la tension interne de l'ampoule dans le canal déférent est de l'ordre de 6 à 7 atmosphères, le milieu muqueux où elle se trouve étant à peu près dans les mêmes conditions physiques, de pression et de viscosité.

Valeur du pH des différentes parties du spermatophore et du canal déférent.

Les observations précédentes ayant montré que les spermatophores changent de taille lorsqu'on les extrait du conduit déférent pour les placer dans les liquides, on pouvait penser à une action particulière du mucus qui les entoure et du canal déférent qui les contient. On sait, en effet, que beaucoup de cellules, ou d'appareils physiologiques, ont des propriétés spéciales dans les liquides et les conduits où ils se trouvent dans l'organisme. C'est ainsi, par exemple, que les spermatozoïdes flagellés sont inertes dans les canaux déférents, les réservoirs spermatiques, et qu'ils sont activés par les liquides externes, certaines sécrétions. Or, parmi les facteurs qui jouent un rôle dans les activations connues, les ions H^+ et OH^- sont souvent des plus actifs, d'où l'idée de rechercher si le pH du conduit déférent était le même dans toutes ses régions, et si, dans le spermatophore, la répartition des ions H^+ et OH^- était uniforme.

Nous avons essayé de résoudre ces problèmes par l'emploi des indicateurs colorés de CLARK et LUBS, dont une goutte était versée sur les réservoirs spermatiques déposés sur une lame. L'examen était fait à la loupe binoculaire, en lumière réfléchie ou directe, sur fond blanc et sur fond noir. Les données ainsi obtenues sont assez précises ; mais dans un même individu les divers spermatophores n'ont pas rigoureuse-

(1) 24, 18 atm., d'après PORTIER (Physiologie des animaux marins, 1938).

ment les mêmes caractéristiques, et l'on est obligé pour se faire une idée nette, d'opérer sur plusieurs individus et de prendre la valeur moyenne des résultats totaux observés. Les méthodes potentiométriques ordinaires de mesure n'étaient, en effet, pas applicables à des organes d'aussi petites dimensions que celles des spermatophores de Pagure. Nous n'avons pas recouru à l'emploi de dispositifs complexes (que nous ne possédions pas) comme les microélectrodes maniées à l'aide du micromanipulateur, combinées par Bodine (1927), I. R. Taylor (1934), et W. A. Dorfman (1936) pour leurs mesures du potentiel électrique intercellulaire et des quantités de liquides inférieures à 1 mm cube. Il ne nous a pas paru indispensable non plus, d'injecter le colorant indicateur à l'aide de micropipettes, comme on peut le faire dans des cellules vivantes (R. Chambers, 1922 ; J. Needham, 1925 ; Rapkine et Wurmser, etc.) pour connaître le pH intérieur de l'ampoule. Nous avons simplement laissé diffuser le colorant à travers la coque, ou bien ouvert le réservoir avec des aiguilles, en laissant couler le contenu dans le colorant. Les résultats, nettement observables, ont été semblables dans les deux cas et n'ont indiqué que le pH des spermies. Celui du colloïde interne est impossible à évaluer avec certitude, à cause du nombre de spermatozoïdes contenus dans l'ampoule. C'est seulement dans les genres *Clibanarius* et *Calcinus* que ce colloïde interne peut être coloré visiblement par suite du petit nombre de spermies contenues dans chaque réservoir.

Les autres parties solides du spermatophore sont directement accessibles au colorant indicateur et donnent des résultats plus nets.

Les indicateurs de la série de Clark et Lubs qui correspondent aux valeurs du pH des diverses régions du spermatophore sont : le bleu de bromothymol, dont la zone de virage utilisée est comprise entre pH 6,0 et 7,6 ; le rouge de phénol, à zone de virage s'étendant de pH 6,8 à 8,4 ; le pourpre de bromocrésol, dont les limites de virage sont pH 5,2 et 6,8. Ils montrent que tout le spermatophore a un pH un peu acide, certaines parties étant neutres. Les valeurs moyennes observées sont les suivantes :

pour l'embase : pH 6,6 à 6,8 ;

pour la coque, en général pH 6,6, et parfois pH 6,8 à 7,0 ;

pour le pédoncule pH 6,9 ;

pour le contenu spermatique (spermies et colloïde) pH 6,9 ou 7,0.

La variabilité de ces données provient non seulement de différences individuelles, mais aussi de l'adsorption du colorant qui est plus ou moins rapide et modifie la nuance initiale attribuable au pH de la partie considérée. Le mucus qui entoure les appareils spermatiques, à l'intérieur du conduit génital, est plus acide qu'eux. Son pH est 6,4. D'autre part, la paroi du canal lui-même est également acide, mais d'une façon variable selon les régions.

2. La composition chimique des spermatophores.

Historique.

Très peu d'auteurs se sont intéressés à la nature chimique des substances contribuant à former les spermatophores de Pagurides. Gilson (1886) pensait qu'elles ressemblent à la *soie*. V. Popov (1924, cité in Mouchet) leur attribue, sans preuves, une nature *chitineuse*. S. Mouchet (1931) n'admet pas cette opinion et pose en principe que ces appareils spermatiques sont constitués par des *scléroprotéines*, dont elle cherche à déterminer le groupe. Pour cela, elle utilise les méthodes de caractérisation de Schultze et Kunike (1923). Sans insister sur ces méthodes, exposées par leurs auteurs, puis par Lengerken (1923) et par Mouchet (1931), nous donnerons simplement le tableau d'analyse fourni par Schultze et Kunike. Les réactifs s'appliquent toujours aux substances préalablement traitées par l'*acide chlordioxyacétique* ou *diaphanol* $COOH\text{-}CCl(OH)^2$ qui « désincruste » les matières à analyser, c'est-à-dire enlève les produits qui les imprègnent sans entrer dans leur constitution, d'une part ; et d'autre part, prépare les constituants à l'action des colorants.

Tableau des réactions de SCHULTZE et KUNIKE.

1. La solution dans SO^4H^2 concentré donne avec l'αnaphtol une coloration violette 3
pas de coloration violette 2

2. Avec l'αnaphtol ou le βnaphtol ..... Jaune ..... *Kératine*
Avec l'αnaphtol ..... Rien ..... *Scintilline*
Avec le βnaphtol ..... Jaune ..... *Scintilline*

3. Avec le βnaphtol ..... Violet ..... *Cellulose. Tunicine*
Jaune 4

4. Insoluble dans l'acide formique à la température ordinaire .... *Spongioline*
Soluble dans l'acide formique (temp. ord.) 5

5. Avec Cl^2Zn iodo-ioduré ..... Violet ..... *Chitine*
Avec Cl^2Zn iodo-iodure ..... pas violet 6

6. Dissoudre dans NO^3H concentré puis ajouter excès NH^3 ..... Jaune ..... *Conchioline*
Dissoudre dans NO^3H concentré et ajouter excès NH^3 ..... Brun-rouge ..... *Cornéine.*

Mouchet n'a obtenu aucun résultat positif par l'emploi de ces méthodes.

Nous avons repris ces techniques et abouti aux mêmes constatations. D'autre part, MOUCHET a essayé de rattacher les substances du spermatophore à la *kératohyaline* ou à l'*éléidine*, à la *soie* ou à la *mucine*, en employant les techniques suivantes :

Recherche de l'*éléidine* par un traitement à l'acide picrique saturé, suivi, après lavage, de la coloration par une solution à 1 % de nigrosone. Certaines parties du spermatophore se colorent en bleu noir comme l'éléidine, mais elles ne donnent pas les autres réactions caractéristiques de cette matière : la réduction d'OsO^4, la coloration par le rouge Congo, virant au bleu en milieu acide, et la coloration par la teinture d'alkanna.

Recherche de la *soie* par les réactions de solubilité de la fibroïne et de la séricine qui sont négatives sur les appareils spermatiques.

Là encore, les résultats qu'elle a obtenus ont été négatifs.

Dans l'ensemble, nous aboutissons aux mêmes conclusions que l'auteur, sauf en ce qui concerne spécialement la *mucine*.

Nous avons voulu alors effectuer une étude méthodique de la composition chimique des spermatophores de Pagurides, sans faire, *a priori*, aucune hypothèse sur leur nature.

Méthodes employées.

Elles peuvent se diviser en deux groupes :

1) Application des réactifs caractéristiques directement sur le spermatophore entier et examen des résultats à la loupe binoculaire ou au microscope.

2) Application des réactifs sur le produit d'hydrolyse des substances à analyser. Cette hydrolyse a été effectuée :

a) par les acides ou les alcalis ;

b) par les enzymes.

1). *Examen direct du spermatophore entier dans les réactifs.*

Les spermatophores frais ou fixés sont placés sur lames porte-objets ou dans des salières, et nous avons commencé par effectuer sur eux les réactions classiques des protéines : à savoir la réaction de MILLON, la réaction du *biuret* et la réaction *xanthoprotéique*. Toutes trois sont nettement positives et pour toutes les parties du spermatophore. Tout de suite, elles mettent en évidence le fait suivant : les différentes régions du spermatophore n'ont pas la même composition quantitative ; ainsi, le réactif de MILLON colore plus vivement l'embase et le mucus entre les spermatophores que la coque et le pied ; la réaction du biuret également ; la réaction xanthoprotéique donne des variations colorées moins tranchées pour ces régions.

La nature de la teinte observée démontre que les différences constatées ne sont pas dues uniquement aux diversités d'épaisseur, mais aussi à des proportions inégales dans les constituants élémentaires. Nous verrons l'intérêt qu'elles présentent quand nous essaierons de déterminer les acides aminés qui entrent dans la constitution des protéines.

Comme on sait que beaucoup de protides voisins des substances qui nous intéressent sont combinés à des sucres divers formant un groupement prosthétique variable, nous avons été amenée à tenter de mettre en évidence un tel groupement sucré dans les enveloppes du spermatophore. Le complexe glucidique soupçonné peut se montrer par la réaction de Molisch-Udransky (action de l'acide sulfurique pur en présence d'αnaphtol) ou par l'emploi du thymol avec SO^4H^2 à 60 % et chauffage prolongé. Dans les deux cas, on obtient une coloration violette caractéristique des sucres. Ces deux réactions se sont montrées positives et l'existence d'un groupement prosthétique sucré dans les protéines du spermatophore est indéniable. Là encore, on observe des différences de coloration dans les diverses régions de l'appareil spermatique.

Ces méthodes simples nous conduisent donc déjà à un fait important qui est le suivant :

Les spermatophores d'Eupagurus sont constitués essentiellement par des glucoprotides.

2) *Hydrolyse des substances à analyser.*

L'hydrolyse peut-être effectuée soit par les acides ou les alcalis, soit par des ferments digestifs. Les deux méthodes conduisent à la séparation des acides aminés assemblés pour former les molécules protéiques. Mais toutes deux possèdent les inconvénients suivants : on ne dispose que de faibles quantités de matériel ; et surtout, celui-ci est souillé par la présence de spermies abondantes inséparables. On peut éliminer une partie de celles-ci sur de petites quantités de réservoirs, mais il reste toujours des spermatozoïdes retenus par le colloïde interne ou l'embase visqueuse. Ces gamètes seront dissous par les agents lytiques et leurs produits de désintégration seront mélangés à ceux qui proviennent de la lyse du spermatophore.

Hydrolyse acide et alcaline.

La dissolution complète des substances formant la coque et l'embase des spermatophores s'opère facilement à la température ordinaire dans les acides minéraux forts et concentrés (HCl, NO^3H, SO^4H^2). Elle s'effectue en quelques minutes dans NO^3H. A l'ébullition ce phénomène est accéléré et conduit assez vite à la formation de composés humiques. Les acides organiques concentrés (acétique, formique, oxalique) n'ont pas cette action.

Dans les bases, la dissolution se fait à une concentration relativement faible. La soude à 15 °/₀ agit en 24 à 48 heures, à la température ordinaire ; le contenu spermatique résiste plus longtemps. A 40 °/₀, l'hydrolyse est très rapide et se fait en 10 minutes environ. L'antiformine (eau de Javel et NaOH à 15 °/₀ aa) ou l'eau de Javel seule, dissolvent aussi très vite les enveloppes et embases des spermatophores. Dans les liqueurs alcalines de concentration voisine de la teneur acidimétrique normale, les spermatophores ne sont pas dissous à froid. A chaud, la dissolution se fait en un temps variable. Signalons en passant que les appareils spermatiques ne sont pas solubles dans l'eau bouillante pure.

Hydrolyse enzymatique.

Pour obtenir la lyse des spermatophores nous avons également utilisé certains ferments digestifs du commerce : la pepsine et la trypsine, ainsi que la bile de bœuf desséchée. Nous les avons fait agir soit à 37°, soit à la température ordinaire de 15-20°, en des mélanges établis selon les proportions indiquées par DE WAELE (1933), mais un peu modifiées dans le cas de la trypsine.

1°. Pepsine	O gr 10	dont le pH était 1,5
HCl	O gr 25	
Eau physiologique	100 cc.	
2°. Trypsine	O gr 40	à pH 7,5.
CO^3NaH	O gr 50	
Eau phys.à 0,7 °/₀	100 cc.	
3°. Trypsine	O gr 40	à pH 7,5.
Bile de bœuf	1 gr.	
Liquide de Ringer	100 cc.	

Un cristal de thymol a été ajouté à chaque lot en expérience pour éviter le développement rapide des bactéries.

La pepsine ne donne aucune protéolyse, que ce soit à 37° ou à la température ordinaire.

Les mélanges trypsiques, associés ou non à de la bile, produisent une dissolution des spermatophores en un temps variant de 24 heures jusqu'à deux semaines, à la température de 37°-38°. A 15°-20°, il n'y a pas eu d'hydrolyse en plusieurs semaines.

En faisant précéder l'action des solutions trypsiques par un séjour allant de 20-24 heures à quelques jours dans le milieu pepsique, les résultats sont les mêmes et n'accusent pas d'accélération de la protéolyse.

L'hydrolyse enzymatique était surtout utile pour libérer les constituants des spermatophores, car on sait le peu de valeur qu'il faut accorder à la digestibilité des substances protéidiques qui ne fournit pas de renseignements précis quant à leur nature. Elle peut cependant, servir à classer sommairement certains scléroprotéides.

C'est ainsi que la pepsine dissout les fibrilles collagènes, la réticuline, certaines substances cornées, et ne digère ni la mucine ni la kératine. La trypsine dissout les fibrilles élastiques et la plupart des protéides. Elle respecte toutefois, le collagène, la réticuline, les substances cornées, la chitine. Nous avons néanmoins recouru aux méthodes de digestion pour établir les rapports qu'il pouvait y avoir entre la résistance aux agents enzymatiques des constituants des spermatophores et celle des autres substances de soutien. La digestibilité dans la trypsine éloigne les premiers des kératines et de la chitine, par exemple.

Les réactifs utilisés directement sur le spermatophore et signalés précédemment ont donné les mêmes résultats sur les produits d'hydrolyse tant acide et alcaline qu'enzymatique.

Analyse des constituants du spermatophore.

A. *Le groupement protidique.*

Nous avons essayé de caractériser les principaux acides αaminés qui entrent dans la constitution chimique des protéines du spermatophore. Cette détermination est importante, car elle permet de comparer ces protéines à d'autres substances protidiques animales dont la composition chimique est connue par l'analyse.

La réaction de MILLON positive indique la présence de noyaux phénoliques. La réaction du biuret est donnée par tous les peptides, à partir des tripeptides. La réaction xanthoprotéique indique la présence de noyaux benzéniques ou hétérocycliques.

Ces réactions fournissent, en outre, des résultats plus précis pour l'identification des acides αaminés contenus dans les molécules protidiques des spermatophores.

C'est ainsi que le réactif de MILLON, dont nous avons signalé les réactions positives ci-dessus, peut caractériser à la fois la *tyrosine* et le *tryptophane*. Les teintes qu'il fournit sont d'ailleurs variables avec ces deux acides aminés. La tyrosine produit une coloration rose, puis rouge brique, le tryptophane donnant une teinte d'un rouge plus brun. Il en est de même de la réaction xanthoprotéique qui est donnée aussi par la tyrosine et le tryptophane.

Déjà l'observation montre que la présence simultanée des deux aminoacides est vraisemblable. On peut confirmer cette présomption par les réactions caractéristiques suivantes :

Celles qui concernent la *tyrosine* sont :

L'azoréaction (ou diazoréaction de PAULY), qui caractérise les composés phénoliques dont l'hydroxyle phénolique est libre (comme c'est le cas de la tyrosine), est positive, et fournit une réaction rouge orangé vive. Elle s'obtient par l'action d'un sel de diazonium sur le phénol en milieu alcalin. Nous avons préparé ce sel avec l'acide sulfanilique d'abord additionné de ClH, auxquels on ajoute ensuite, extemporanément et à froid, une solution de nitrite de sodium à 5 % ; on alcalinise la solution

par du carbonate de soude à 10 °/₀ et on l'emploie immédiatement sur le matériel à étudier. L'histidine fournit, dans les mêmes conditions, une coloration rouge vif plus intense.

Le réactif de MOERNER (formol à 1 °/₀ dans l'acide sulfurique à 50 °/₀) produit aussi une coloration (verte) mais faible, attribuable au même aminoacide. La réaction chromaffine, négative, exclut la présence de di ou polyphénols en position ortho ou para.

Les diverses réactions qui caractérisent le *tryptophane* sont positives : celle d'ADAMKIEWICZ, modifiée par HOPKINS et COLE (l'acide glyoxylique, ou une trace d'aldéhyde formique (ROSENHEIM), donne une coloration violette quand on ajoute de l'acide sulfurique pur) ; la même, modifiée par FURTH et LIEBEN (ClH concentré en présence de formol, additionné ensuite de nitrite de sodium ou de Cl^3Fe) ; celle de l'acide chlorhydrique à 50 °/₀ et du glucose, qui donne une faible coloration violette ; de même la réaction de REICHL (chlorure ferrique et benzaldéhyde) fournit la coloration verte caractéristique sur les produits d'hydrolyse de nos appareils. L'intensité des teintes obtenues est variable selon les régions ; plus forte dans l'embase que dans la coque et le pied du spermatophore, elle y démontre une teneur plus grande en tryptophane.

Nous avons pu également déceler la présence de l'*arginine*. Cet acide monobasique diaminé est identifié à l'aide de la réaction de SAKAGUSHI, qui consiste à faire agir en milieu alcalin de l'αnaphtol et de l'hypochlorite de sodium sur la matière protéique. On obtient une coloration rouge, surtout nette dans la coque et le pied du spermatophore et le colloïde autour des spermies. L'embase, à peine colorée, paraît contenir fort peu d'arginine. L'action du diacétyle en présence de soude (HARDEN et NORRIS) est négative, mais ce résultat n'est pas significatif, car la réaction est peu sensible d'une part, et, d'autre part, la soude rend les appareils spermatiques très hyalins.

Les recherches effectuées pour identifier la *phénylalanine* et l'*histidine* sont restées infructueuses.

Le premier de ces acides aminés donne la réaction xanthoprotéique ; mais comme la tyrosine et le tryptophane, décelés précédemment, en sont également responsables, il fallait l'identifier par d'autres techniques. La méthode de KAPELLER-ADLER, que nous avons un peu modifiée n'a pas donné de résultat positif. Voici la façon dont nous avons procédé : les appareils spermatiques ont été traités à froid par une solution de nitrate de potasse à 10°/₀ dans SO^4H^2, pendant 20 minutes. On a ajouté ensuite, du chlorhydrate d'hydroxylamine à 15 °/₀, puis de l'ammoniaque concentrée. Après 15 à 20 minutes, il doit se produire une coloration violette due à la présence de phénylalanine. Nous n'avons pas pu l'observer. (La réaction ainsi modifiée nous a cependant donné un résultat positif sur certaines parties du spermatophore de Céphalopodes, ainsi que nous le verrons dans la deuxième partie de ce travail, ce qui montre la validité de la méthode).

L'histidine a été recherchée au moyen d'une solution de brome à 1 °/₀ dans l'acide

acétique à 33 %, qu'on laisse agir 10 minutes. On ajoute un mélange d'ammoniaque et de carbonate d'ammonium à 10 % et on chauffe 5 minutes au bain-marie. Il doit apparaître une teinte violette. Nous ne l'avons obtenue ni sur les spermatophores, ni sur le produit de leur hydrolyse. La diazoréaction de PAULY est demeurée négative également, en ce qui concerne l'histidine.

En revanche les substances des spermatophores contiennent des *groupements sulfhydrilés*, qu'on peut mettre en évidence par les réactions au nitroprussiate de Na et au plombite de soude. Avec HOPKINS on peut classer les substances contenant des composés thiols en deux groupes :

1° Les substances *solubles* ou *libres*, dont les plus importantes sont le glutathion réduit et le glutathion oxydé, décelables directement, ou après réduction, par le nitroprussiate de soude.

2° Les substances à fonction sulfhydrile *fixes*, non décelables immédiatement par le nitroprussiate de soude. On les met en évidence par l'emploi de coagulants ou de dénaturants des protéines, avant de faire agir le réactif. C'est ainsi que l'acide trichloracétique peut extraire les formes solubles et démasquer les groupements SH fixes. GIROUD et BULLIARD (1930) les considèrent comme de la cystéine faisant corps avec les protides protoplasmiques.

Dans les substances du spermatophore d'*Eupagurus prideauxi*, nous avons constaté (1939) en exécutant la technique opératoire indiquée par LANGERON (1934), que la forme réduite du glutathion était absente. Ceci est normal, si l'on admet avec BINET et G. WELLER (1937) que le « glutathion est strictement lié à la vie active et ne se trouve que dans l'enceinte même de la cellule ». Il n'existe pas dans les cellules mortes et les humeurs (substances conjonctives, cartilagineuses, plasma sanguin, bile, liquide céphalo-rachidien, etc.) GIROUD (1930-1931) conclut à l'absence de glutathion et de thiogroupe fixé dans la couche cornée épidermique « terme ultime de l'évolution du corps muqueux » ; de même dans la couche superficielle des muqueuses (cornée, langue) et les différenciations cuticulaires. D'autres auteurs constatent cette disparition des groupements SH dans les tissus nécrotiques de tumeurs (C. VOEGTLIN et J. W. THOMSON, 1926 : J. LECLOUX, R. VIVARIO, J. FIRKET, 1927). Cependant nous avons trouvé du glutathion oxydé dans les appareils spermatiques, surtout dans l'embase, en effectuant la réaction au nitroprussiate après avoir soumis les spermatophores à une solution réductrice de cyanure de potassium à 10 % pendant 8 à 10 minutes. Il se produit une coloration rouge violacée nette, de toutes les parties, mais assez faible sur la coque. Ceci indique la présence de glutathion oxydé à groupements S-S, susceptible d'être ramené à la forme SH. Ce fait est en contradiction avec ce que nous venons de voir sur les rapports entre l'activité vitale cellulaire et la présence du tripeptide à fonction thiol. En effet, les glucoprotides du spermatophore sont des produits inertes sécrétés par les cellules. Il semble que notre observation puisse être rapprochée de ce que décrit J. BROUSSY (1932) dans les glandes du

gésier du Grand-Duc, où la réaction au nitroprussiate est positive, aussi bien dans le contenu granuleux sécrété dans la cavité glandulaire que dans les cellules sécrétantes. C'est plus tard seulement que la réaction devient négative, lorsque le revêtement interne du gésier a pris sa forme définitive.

Lorsqu'on a éliminé les composés sulfhydrilés solubles des spermatophores à l'aide de l'acide trichloracétique, on obtient la réaction au nitroprussiate plus vive que précédemment. Elle décèle les substances à fonction SH fixes, plus abondantes que les formes solubles. Il s'agirait de la cystéine liée aux autres groupements aminés protidiques de l'appareil spermatique. Mais la cystéine existe aussi sous sa forme oxydée : la *cystine*. On peut le constater en faisant agir un réducteur, tel CNK, avant de mettre le nitroprussiate de soude. La teinte obtenue est encore intensifiée, ce qui montre que l'on a réduit d'autres groupements disulfurés.

Giroud et Bulliard (1928-1929) et Giroud, Bulliard et Giberton (1929), ont montré que les groupements sulfurés des kératines étaient dûs à l'oxydation des corps à fonction SH solubles et surtout fixes, qui existent au niveau du corps muqueux.

D'un autre côté, la digestion pepsique de protides qui ne réagissent pas au nitroprussiate, tels que l'albumine de l'œuf (Arnold, 1910-11 ; Harris, 1923), le sérum sanguin (Binet et Weller, 1934, p. 37) peut donner lieu à l'apparition de corps sulfhydrilés dans les extraits provenant de la dislocation de leur molécule protéique.

La présence de groupements sulfhydrilés apparaît ainsi comme une étape dans l'élaboration ou la dislocation de molécules protidiques inertes. Il semble que ces composés caractérisent plutôt la matière protéique en transformation que la seule activité vitale intracellulaire.

En résumé, nous avons pu déceler dans les protides du spermatophore les aminoacides suivants :

Acide monobasique monoaminé : la *tyrosine*, présente dans tout le spermatophore.

Acide monobasique diaminé : l'*arginine*, surtout dans la coque et le pied.

Composé hétérocyclique : le *tryptophane*, contenu dans tout l'appareil spermatique.

Acides thioaminés : la *cystéine* et la *cystine* liées aux protides sont surtout abondants dans l'embase. La cystine est présente aussi dans le *glutathion oxydé* que nous avons trouvé.

L'absence de deux acides aminés est à retenir également ; ce sont : la *phénylalanine* et l'*histidine*.

B. *Le groupement prosthétique.*

Caractérisation.

Nous avons vu que les constituants des spermatophores étaient des protéines conjuguées du groupe des glucoprotéides. Nous avons tenté de déterminer la nature du groupement prosthétique qui s'y trouvait contenu.

A cet effet, nous avons essayé les réactions caractérisant certains hétéroprotéides à groupement glucidique : les *muco* et *chondroprotéides*. L. Lison (1936) a montré que ces substances étaient *chromotropes*, et donnaient avec les colorants appropriés la teinte métachromatique qu'ils peuvent fournir. Cet auteur a prouvé que cette réaction était attribuable à un ester sulfurique de polyoside, présent dans la molécule protéique. Dans le cas de la mucine, on sait que c'est l'acide mucoïtine-sulfurique et dans celui du chondromucoïde ,que c'est l'acide chondroïtine-sulfurique.

Les colorants métachromatiques (thionine, bleu de toluidine, safranine) colorent métachromatiquement la coque, le pied et le mucus entourant les spermatophores. Ces parties contiendraient donc, comme groupement prosthétique, de l'acide sulfurique estérifié, fixé sur un polyoside. L'embase reste incolore ou faiblement teintée par la nuance chromatique du colorant.

La coloration par le mucicarmin, spécifique du mucus, se fait sur les mêmes parties, mais elle ne donne pas des résultats très constants. Lorsqu'on l'emploie suivant la méthode de Masson, combinée à l'hémalun-jaune de métanile, ce dernier teinte la coque du spermatophore et n'est pas toujours remplacé par le mucicarmin. On sait également que si le colorant est un peu acide, il est nécessaire de le neutraliser pour qu'il soit électif.

Les faibles quantités dont nous disposions ne nous ont pas permis de séparer la protéine de son groupement prosthétique hydrocarboné en employant les méthodes préconisées par Levene (1925) et Schmiedeberg (1920) et utilisées depuis par H. Garrault (1933), avec quelques modifications. Elles comprennent essentiellement trois temps pour identifier l'hexosamine du polyoside estérifié.

1° La séparation de l'acide mucoïtine (ou chondroïtine)-sulfurique par hydrolyse alcaline modérée (KOH ou NaOH) à froid. On le purifie par précipitations et lavages successifs à l'alcool, puis séchage à l'éther.

2° La décomposition de l'acide mucoïtine-sulfurique en ses constituants, par hydrolyse dans HCl à 10 % à chaud, en présence d'acétate de Ba. On libère d'abord l'acide sulfurique et la mucoïtine, non réductrice et dépourvue d'azote aminé. Par prolongation de l'hydrolyse, cette dernière se décompose en acide acétique et mucosine, disaccharide réducteur dont tout l'azote est sous la forme aminée.

3° On isole l'hexosamine de la mucosine sous forme de chlorhydrate de chitosamine (ou *d* glucosamine) qui cristallise, après purification, d'une façon caractéristique, en opérant une hydrolyse plus forte et plus longue (par HCl à 20 % en présence de $SnCl^2$).

L'acide *d* glycuronique obtenu en même temps est identifié par d'autres méthodes.

Il a été impossible de savoir si, dans les spermatophores, nous étions en présence d'une hexosamine réduisant la liqueur de Fehling, et de l'identifier à la glucosamine ou à la chondrosamine des acides mucoïtine ou chondroïtine-sulfurique, seuls esters

sulfuriques connus chez les animaux jusqu'à présent. Nous ne saurons si nous sommes en présence de mucoprotéides vrais, que lorsque la nature du polyholoside en aura été déterminée ; ceci paraît difficilement réalisable avec les moyens actuels d'analyse, étant données les faibles quantités de spermatophores dont on puisse disposer. On peut penser qu'il s'agit de chitosamine (glucosamine) parce que cet aminohexose forme la base de la chitine, qui est la substance de soutien fondamentale chez les Crustacés. Il est, en effet, moins probable que ce soit de la chondrosamine (galactosamine) des Vertébrés, bien que l'on ne connaisse pas sa répartition dans les groupes zoologiques, ni si elle se trouve chez les animaux inférieurs et les plantes (Levene, p. 19).

Les caractères physiques de la coque diffèrent de ceux de la majorité des mucines (ovomucoïde, séromucoïde, muqueuse gastrique, etc.) ; mais se rapproche de ceux de la cornée comme consistance et transparence. En revanche, le mucus entourant les spermatophores dans le canal déférent présente des propriétés communes avec la mucine : acidité (pH 6,4), solubilité dans les alcalis faibles, précipitabilité par les acides et chromotropie. Il paraît ainsi être de même nature que les autres mucus d'Invertébrés ou de Vertébrés.

Dans l'embase, le groupement glucidique ne donne pas de coloration métachromatique, et n'est, de ce fait, pas un ester sulfurique de polyoside. On sait que beaucoup de matières protidiques possèdent un reste glucidique fournissant la réaction de Molisch et se colorant par le thymol-acide sulfurique (ovalbumine, sérumalbumine, sérumglobuline, glutéline) ; certains auteurs les rangent parmi les holoprotéides (Polonovski, Eléments de Biochimie médicale, 1941) ; d'autres en font des glucoprotides (in Thomas, 1936). L'embase, qui présente les deux réactions ci-dessus, considérées comme caractéristiques des groupements glucidiques, qui, d'autre part, n'est pas chromotrope, se placerait dans ce groupe, (les dimensions réduites de ce support ne permettent pas de le séparer du reste de l'appareil spermatique ni, par suite, de déterminer s'il est formé d'un holoprotéide ou d'un protéide associé à un groupement prosthétique (glucoprotéide). L'embase différerait donc nettement des autres régions du spermatophore. Quelle est la nature de son reste glucidique ? Il nous est impossible de le préciser. Cependant, la réaction de Selivanoff, sur des appareils spermatiques conservés à l'alcool permet de dire qu'il ne s'agit pas d'un cétose (on chauffe 2 minutes au bain-marie 2 cc de solution du glucide en ajoutant une pincée de résorcinol et 2 cc de ClH pur ; le liquide se colore en rouge avec les cétoses ; les aldoses fournissent une coloration rose pâle ou jaunâtre), car on obtient une teinte rose jaunâtre de l'embase. Le traitement des spermatophores pareillement fixés, par la réaction à l'orcinol à 0,1 % dans ClH pur donne, en chauffant, une coloration orangée de la coque et de l'embase, indiquant qu'elles contiennent un hexose (trioses et pentoses fournissent une couleur violette). La réaction au βnaphtol à 0,9 % dans SO^4H^2 concentré (Thomas) confirme ce résultat, en donnant une coloration vert-brun, alors que les pentoses fournissent une teinte bleu-outremer.

L'identification de l'aldohexose ainsi obtenu par hydrolyse n'a pu être poussée plus loin. Nous avons essayé, sans succès, de le caractériser par son osazone. On sait que les osazones donnent des cristaux jaunes typiques de certains groupes de sucres. Nous avons procédé en hydrolysant les spermatophores dans l'acide chlorhydrique à 6 %, chauffé au bain-marie pendant 6 à 8 heures. On neutralise, puis alcalinise avec de la soude à 20 % et chauffe la liqueur en présence du 1/10e de son volume d'une solution de 20 gr. de phénylhydrazine dans 80 cc. d'acide acétique à 20 %. Aucune cristallisation n'a pu être obtenue par ce traitement.

En résumé, le groupement prosthétique du glucoprotéide de la coque et du pied apparaît comme un ester sulfurique de polyoside voisin, sinon identique, de l'acide mucoïtine sulfurique des mucoprotides. Le groupement glucidique de l'embase n'a pu être rattaché à un composé sucré connu.

Dans l'ensemble, les données que nous avons obtenues sur les constituants des spermatophores nous permettent de conclure que ces substances sont des protéides dont certains voisins des mucoprotéides vrais. Leur molécule contient des acides αaminés, parmi lesquels nous trouvons la tyrosine, l'arginine, le tryptophane, la cystine, la cystéine et, de plus, un tripeptide, le glutathion, sous sa forme oxydée.

Cette composition a pu autoriser un rapprochement avec d'autres substances de soutien, en particulier avec les kératines des Vertébrés, où l'on retrouve la tyrosine, le tryptophane à côté de la cystine (Giroud, Bulliard et Leblond, 1934). Toutefois, dans les kératines, il s'agit d'un composé sous la forme disulfure : la cystine, non réductible sans dislocation de la molécule ; dans les spermatophores, au contraire, il existe sous forme réduite (SH fixes) et oxydées réversibles (dans le glutathion oxydé et la cystine liées aux protéides) à côté d'une forme très oxydée comme l'ester sulfurique de polyoside, qui ne peut être réduit par les moyens habituels.

Par ailleurs, si nous comparons la composition des protéides de nos appareils à celle que N. Alders (1927) attribue à la séricine de la soie, nous remarquons une analogie très nette. Cet auteur trouve, en effet, du tryptophane, de la tyrosine, de la cystine, de l'arginine. Il conclut à l'absence totale d'histidine. Son analyse, cependant, ne tient pas compte de la sérine, dont on sait qu'il y a de fortes proportions dans la séricine, ni d'autres acides monoaminés (alanine, glycine) dont l'analyse donnée par P. Thomas (Biochimie, 1936, p. 783) montre la présence.

La composition mucoprotidique de la coque la rapproche aussi de la chitine, d'après le rapport qu'établit Levene (1925, p. 134) en ces termes : « Les mucoprotéines sont, en fait, des polysaccharides contenant dans leur molécule les composants de la chitine (chitosamine et acide acétique) auxquels sont joints d'autres hydrates de carbone, et qui, finalement, se combinent avec des protéines. »

Le spermatophore est donc formé de plusieurs protéides, dont certains sont des hétéroprotéides, se rapprochant de types déjà connus, mais s'en éloignant par divers caractères. Il semble que l'on puisse entrevoir la classification possible de certains d'entre eux dans des groupes actuellement définis. En tout cas, leur originalité n'est pas telle que l'on doive en faire des substances à part, comme Mouchet l'a avancé.

CHAPITRE II

Le Spermatophore à l'état dynamique.

Le spermatophore, dont nous avons fait l'examen à l'état de repos, est un appareil destiné à disséminer les gamètes de l'espèce. Il doit par conséquent : d'une part, être véhiculé pour atteindre la femelle ; et, d'autre part, s'ouvrir pour que les spermatozoïdes puissent féconder les ovules. Les diverses modalités de l'ouverture du spermatophore font l'objet de ce chapitre.

Historique.

Parmi les travaux sur les spermatophores de Pagurides, nous ne trouvons que ceux de S. MOUCHET (1931) et de F. BLOCH (1936) qui soient relatifs à la déhiscence de ces appareils. Disons tout de suite que les recherches de ces deux auteurs n'ont, toutefois, pas apporté de précision sur les conditions naturelles et le moment précis de l'ouverture des ampoules où sont enfermées les spermies fécondantes.

La première, S. MOUCHET, a fréquemment trouvé de nombreux réservoirs déposés sur le corps de Pagures femelles. Ils étaient toujours restés intacts. C'est pourquoi elle pense que leur déhiscence doit être provoquée par une sécrétion de la femelle mûre. Mais elle a pu, dans quelques cas, obtenir expérimentalement l'ouverture des appareils d'*E. prideauxi*. La soude concentrée et le rouge Congo à 1 % ont permis, notamment, l'expulsion du contenu spermatique par une fente s'ouvrant sur l'un des côtés de l'ampoule. L'acide chlorhydrique et l'eau distillée pure sont restés sans action, mais ils ont été efficaces sur les spermatophores d'espèces ou de genres voisins (*E. bernhardus*, *E. cuanensis*, *Clibanarius*, *Diogenes*). Les autres milieux expérimentaux essayés par l'auteur (solutions salines, extraits d'ovaire, action successive d'acides et de bases) sont toujours demeurés sans effet sur les spermatophores de tous ces Pagurides. Les ouvertures ainsi obtenues se font, pour chaque espèce considérée, toujours dans la même région de la coque. MOUCHET en conclut que les déhiscences expérimentale et naturelle sont identiques. Voici ses observations sur les appareils d'*E. prideauxi* : « Il se fait dans la coque une fente qui a toujours la même longueur, la même forme et le même emplacement. Elle se trouve du côté du corpuscule accessoire, sur un des méridiens longitudinaux de l'ampoule et se trouve située de telle manière que son extrémité supérieure est voisine du sommet, l'extrémité inférieure correspondant au point où l'ampoule commence à se renfler en fuseau. » Nous sommes

d'accord avec l'auteur sur la forme de cette déhiscence provoquée par la soude et le rouge Congo, mais elle diffère de l'ouverture observée dans les conditions naturelles, comme nous le démontrerons plus loin.

Dans le travail de F. Bloch, le plus important sur la question, l'on trouve la seule description complète de l'accouplement, du dépôt des spermatophores, de la fécondation et de la ponte, jusque là inconnus, chez les Pagurides. En effet, ses prédécesseurs (Cavolini 1787 ; Brandes 1897 ; Jakson, 1913) n'en avaient pas saisi toutes les phases et leurs relations étaient demeurées fragmentaires. D'après F. Bloch, après l'accouplement, chez *Diogenes pugilator*, les spermatophores expulsés par le mâle se collent à la face ventrale du conjoint dans les régions thoracique et abdominale, surtout sur les soies. La ponte a lieu immédiatement après, et l'auteur a pu voir la fécondation des ovules par les spermies s'échappant des réservoirs spermatiques ouverts ; néanmoins, elle n'est pas parvenue à saisir le moment de leur déhiscence. Chez *E. bernhardus*, elle a pu trouver une femelle qui venait de pondre et portait, collés sous son abdomen, des réservoirs spermatiques, dont certains étaient vides ou en train de se vider, d'autres encore pleins. Comme Mouchet, F. Bloch attribue la cause de la déhiscence des spermatophores à une substance sécrétée par la femelle, qui serait émise seulement lors de la ponte, soit qu'elle provienne de l'œuf pondu ou d'une sécrétion oviductaire à ce moment. Pour vérifier cette hypothèse, l'auteur a tenté d'obtenir *in vitro* la déhiscence des spermatophores par l'action d'extraits d'ovaires et d'oviductes broyés. Malgré un long contact, les résultats ont été nuls. Expérimentalement, elle n'a obtenu l'ouverture des ampoules que par compression progressive entre lame et lamelle.

Nous n'avons pas eu, plus que nos prédécesseurs, la chance d'assister à l'ouverture des spermatophores au moment de la ponte.

Nous avons repris l'étude de la question sous l'angle expérimental, en vue de déterminer les facteurs susceptibles d'intervenir dans les conditions naturelles de l'ouverture des spermatophores. Ces recherches nous ont, en outre, apporté de nombreux renseignements sur la physicochimie des substances anhistes qui constituent ces appareils.

1) Déhiscence expérimentale du spermatophore.

Notre attention a été attirée par le fait que l'appareil spermatique, destiné à s'ouvrir pour assurer la fécondation, se trouve inerte à l'intérieur du canal déférent. Il nous a paru que les conditions physico-chimiques internes des voies génitales mâles étaient responsables de ce blocage des déhiscences. La connaissance de certaines conditions (acidité, pression osmotique, viscosité) de ce milieu, permettait de rechercher si leur variation expérimentale était susceptible d'intervenir dans la libération des spermies. C'est ce que nous avons tenté de déterminer, en employant des groupes d'agents divers, qu'on peut penser intervenir dans les milieux naturels qui environnent

les spermatophores. L'action de chacun des facteurs capables d'influencer le comportement de ces appareils a été étudiée soit seule, soit en relation avec les autres.

Méthodes employées.

Pour étudier les effets des différents milieux choisis sur les spermatophores de Pagures, nous avons procédé de la façon suivante :

La région distale du conduit déférent, où s'accumulent les spermatophores mis en réserve, est détachée de l'animal et conservée dans une chambre humide pendant la durée d'une série d'expériences. Pratiquement ce temps ne dépasse pas une dizaine d'heures et il est généralement de 4 à 6 heures. Les appareils spermatiques sont prélevés au fur et à mesure des besoins, à l'aide de pinces et d'aiguilles, en évitant de les faire passer par un milieu liquide différent de celui qui doit être expérimenté. Ils sont transportés, au nombre de 50 à 100 généralement, sur des lames porte-objets ou dans des salières et immergés immédiatement dans la solution à éprouver. Nous n'avons, le plus souvent, pas mis de lamelle couvre objet, ayant remarqué qu'elle pouvait ralentir beaucoup les dehiscences espérées : sans doute par suite des contacts imparfaits ou non renouvelés.

Les solutions employées ont été préparées soit dans l'eau distillée, soit dans l'eau de mer. Certains produits dont les émanations gazeuses sont actives (H^2S, par exemple) ont été utilisés à l'état de vapeurs agissant sous cloche, sur les spermatophores placés dans une solution saline ou dans l'eau distillée. Il nous a paru souvent utile de changer plusieurs fois à la pipette les solutions, à intervalles de 10 à 15 minutes. Parfois nous avons étudié successivement l'action de plusieurs milieux, en passant directement de l'un à l'autre, sans rinçage spécial entre eux. On change seulement la deuxième solution une ou deux fois avant d'en noter les effets.

L'examen est effectué sous le microscope ou à la loupe binoculaire, à intervalles de quelques minutes pendant une durée de temps fixée à une heure, au maximum ; les ampoules qui n'éclatent pas dans ce délai sont considérées comme réfractaires à l'action du réactif employé. Cette durée a été choisie parce qu'elle était commode et qu'une action plus longue du milieu en cause ne modifie pas, en général, les résultats acquis en ce temps. Il est à noter que les effets obtenus s'observent le plus souvent pendant la première demi-heure de l'expérience ; dans la seconde moitié il ne se produit pratiquement rien.

Les modifications obtenues dans chaque réactif sont évaluées par comparaison avec le spermatophore placé dans son milieu originel, dans le canal déférent (examiné soit par transparence, soit juste à sa sortie du conduit). Les appareils d'un même individu servent au plus grand nombre d'observations possibles, afin de multiplier les données comparables. Insistons tout de suite, pour n'avoir plus à y revenir, sur le fait que les spermatophores des divers individus peuvent présenter des différences très grandes dans leur sensibilité aux mêmes réactifs ; et, de plus, que dans le même

individu, tous les spermatophores ne sont pas identiques dans leur réponse. Il faut donc, le plus souvent, répéter un grand nombre de fois la même expérience, et sur plusieurs individus avant de pouvoir se faire une idée précise de l'action de la substance chimique étudiée.

Modifications expérimentales du milieu.

1. *Rôle du pH des solutions.*

Les appareils spermatiques sont enrobés dans un mucus qui empêche leur éclatement dans le conduit déférent : d'une part, en retenant l'eau qui pourrait pénétrer dans les ampoules, et, de l'autre, par ses ions H^+ ; son acidité, quoique légère, est nette et de valeur pH = 6,4 comme nous l'avons montré plus haut.

Nous avons voulu vérifier, tout d'abord, si cette acidité intervenait sur le comportement des spermatophores. A cet effet, ces productions ont été soumises à des solutions acides.

Action des ions H^+.

Nous avons employé, sur les spermatophores d'*E. prideauxi*, uniquement, parmi les acides minéraux forts, des acides à anion monovalent, tels que HCl, NO^3H ; et les acides carbonique, acétique et oxalique, parmi les acides faibles (le dernier agit comme acide monovalent au-dessous de pH3). Certains de ces acides ont été employés concentrés (HCl, NO^3H) : tous, sauf CO^2, ont été dilués dans l'eau distillée neutre, à différentes concentrations ; HCl, plus spécialement, a été utilisé à partir de la liqueur acidimétrique normale, jusqu'à sa dilution au 1/1000e.

Les valeurs du pH correspondantes, données par Legendre (1925) sont indiquées dans le tableau I.

L'acide carbonique était utilisé sous la forme de l'eau de Seltz du commerce, pure. Les réactifs utilisés peuvent produire sur les spermatophores des déhiscences, des gonflements et des coagulations.

Déhiscences. — Comme on s'y attendait, les solutions acides ne provoquent pas, en général, l'ouverture des ampoules spermatiques. Il faut mettre à part le cas des spermatophores placés dans l'acide nitrique concentré. La suture y est hydrolysée en 5 minutes environ, et la coque en 20 minutes. De même, l'acide oxalique déci ou centinormal, peut, chez certains individus, provoquer des éclatements en 1 minute, par ouverture latérale de la suture. L'acide chlorhydrique, à toutes concentrations, ne produit aucune déhiscence.

Gonflements. — Chez *E. prideauxi* le gonflement des ampoules dans les acides n'est pas très important (comparer Pl. I, fig., 2-3). Il se fait simultanément pour la coque et le contenu, et ne montre pas de variations très fortes avec la dilution du réactif. Les spermatozoïdes sont dévaginés, et, de ce fait, augmentent de volume.

TABLEAU I.

pH correspondant à des solutions acides et alcalines

Concentrations acides	pH	Concentrations alcalines	pH
ClH (solution normale)	0,10	NaOH (solution normale)	14,05
— N/10	1,07	— N/10	13,07
— N/100	2,02	— N/100	12,12
— N/1000	3,01	— N/1000	11,13
CH^3COOH N/1	2,37	NH^4OH N/1	11,77
— N/10	2,87	— N/10	11,27
— N/100	3,37	— N/100	10,77
— N/1000	3,87	— N/1000	10,27

La dilatation des spermies est surtout importante dans les solutions d'acide oxalique, comme l'a montré Susaeta (1926), ce qui explique sans doute l'action spéciale de cette substance.

Le tableau II montre les variations de la hauteur et de la largeur maximum du réservoir spermatique dans les acides à différentes concentrations.

Le gaz carbonique de l'eau de Seltz produit un gonflement assez grand, la longueur obtenue étant de 357 μ et la largeur de 75 μ, alors que dans le canal déférent les spermatophores mesurent 319 μ sur 64 μ de large.

Coagulations. — Le colloïde qui baigne les spermies dans l'ampoule n'est pas coagulé dans HCl à N/1000 ; à N/100 la coagulation commence à se faire environ après 1/2 heure de contact ; en liqueur normale ou décinormale cette floculation se produit en quelques minutes (5 à 10'). Elle est visible lorsqu'on déchire l'ampoule, les spermies restent agglomérées ensemble. Dans l'acide oxalique, quand il y a des éclatements, le contenu est coagulé et sort gonflé, tout en gardant la forme du réservoir.

TABLEAU II.

Variations de la longueur et de la largeur des spermatophores avec l'acidité des solutions.

EUPAGURUS PRIDEAUXI N° 35

Témoins dans l'eau de mer		Concentrations de l'acide	Acide Chlorhydrique		Acide Oxalique	
Long. en μ	Larg. en μ		Long. en μ	Larg. en μ	Long. en μ	Larg. en μ
380	90	Solution concentrée	400	80		
		» Normale	378	80		
		» N/10	385	82	410	80
		» N/100	410	85		

Les embases sont coagulées, mais ne sont pas adhésives dans les acides dilués ; elles deviennent hyalines dans les solutions les plus fortes, à partir de l'acide chlorhydrique centinormal. Il se fait un début d'hydrolyse. Le pédoncule reste opaque.

Le mucus autour des spermatophores est également coagulé et retient les ampoules en paquets.

Dans l'action des acides dilués deux facteurs principaux interviennent simultanément :

a) La pression osmotique peu élevée, dont nous verrons plus loin le rôle important.

b) Les ions H^+ qui produisent le gonflement de toutes les parties de l'ampoule, sans, toutefois, qu'il soit assez grand pour en provoquer l'ouverture.

Parmi les explications qui ont été fournies pour rendre compte de l'accroissement de volume ainsi observé, on peut citer la suivante :

Les acides agissent sur les protides du spermatophore, comme sur les autres protéines, en se combinant chimiquement, suivant des proportions définies, avec les ions protéiques, ce qui a pour effet d'augmenter leur ionisation (W. Pauli, 1912 à 1933 ; J. Loeb, 1924). La protéine ionisée fixe de l'eau jusqu'à une certaine valeur du pH au delà de laquelle il s'opère une désagrégation, qui n'est plus réversible, de la molécule protidique (Ettisch et Schultz, 1933). L'accroissement de la quantité d'eau fixée produit un gonflement des substances protéiques. Du côté acide c'est aux environs de pH 2 que le gonflement atteint sa plus grande valeur : il en est de même de la tension osmotique et de la viscosité (Pauli et collaborateurs, 1920-1933 ; Susaeta, 1927 ; Kuntzel, 1929 ; D. J. Lloyd, 1930).

C'est également à pH 2 environ que nous avons obtenu le gonflement maximal des spermatophores.

Le gonflement plus grand produit par l'acide oxalique, pouvant aller jusqu'à provoquer l'éclatement, est peut-être attribuable à des réactions particulières entre le groupement carboxyle et certaines liaisons protidiques du spermatophore et surtout du ciment de la suture. Nous retrouverons cette action de l'acide oxalique sur les appareils de *Pagurus*.

Ces faits confirment donc l'hypothèse que les ions H^+ contribuent au blocage des spermatophores dans le canal déférent. Les ions OH^- doivent théoriquement avoir une action inverse, et nous sommes ainsi amenée à étudier leurs effets.

Action des ions OH^-.

Pour mettre en évidence le rôle des ions OH^- des solutions sur les spermatophores, nous avons traité ces appareils par des alcalis à diverses concentrations dans l'eau distillée. La soude, surtout, a servi ; l'ammoniaque et la chaux ont été employées comme bases moins fortes. Nous avons également recherché les effets de certaines de ces bases en solution diluée dans l'eau de mer.

Soude. Les solutions dans l'eau distillée ont été établies à partir de la liqueur normale ; nous les indiquons au tableau I, avec le pH correspondant à chacune, d'après les données fournies par Legendre (1925). Nous remarquerons tout d'abord que les réactions générales des spermatophores dans la soude sont les mêmes, quelle que soit la dilution de la liqueur considérée. Les modifications produites par les diverses solutions diffèrent surtout par leur intensité, en ce qui concerne les gonflements ; et par leur vitesse, dans le cas des déhiscences.

Gonflements. — On observe d'une façon constante, à toutes les concentrations de soude, une dilatation de tout l'appareil spermatique : coque, contenu ampullaire, embase et pied, (Pl. I, comparer fig. 2-3 bis).

Le volume de l'ampoule croît irrégulièrement lorsqu'on examine les appareils successivement dans l'eau distillée, puis dans la soude à N/1000 (pH 11, 13), à N/100 et à N/10 (souvent le maximum de gonflement s'observe dans la solution centinormale.) A une teneur plus forte, N/5 ou N, le volume est un peu moins accru.

Les spermies qui se dévaginent augmentent de taille considérablement, comme c'est l'habitude dans les alcalis (Susaeta, 1926). Le colloïde entre les spermatozoïdes, floculé, se dilate beaucoup.

La coque suit le même mouvement, étant élastique et, parfois, gonfle davantage que le contenu.

Les embases subissent également une semblable dilatation, deviennent, en même temps, très transparentes et d'aspect gélatineux. Lorsque la solution alcaline se carbonate à l'air, elles se contractent et reprennent leur première opacité. L'addition d'une nouvelle quantité d'alcali reproduit la dilatation et l'éclaircissement du début.

Déhiscences. — Le gonflement des ampoules spermatiques dans les alcalis aboutit à peu près toujours à la déhiscence, qui se fait par une ouverture latérale de la suture vers le tiers supérieur du réservoir. Le contenu est alors expulsé par la fente, en une masse plus ou moins dilatée (figs. 4-5, Pl. I).

En faisant agir la série des liqueurs sodées indiquées ci-dessus, sur les spermatophores d'un même individu, on peut voir que la vitesse des éclatements varie avec la concentration alcaline. Elle est d'abord proportionnelle au pH de la solution et croît avec l'alcalinité jusqu'à pH 12,12 (liqueur centinormale, où tout éclate en 1 à 5 minutes, généralement). Dans les solutions plus concentrées, à partir de N/20, la vitesse décroît jusqu'à la concentration de N/5 ou N/2 (éclatement en 10 minutes environ), puis s'accroît de nouveau dans la solution normale, où tout s'ouvre en 1' 30''. Il arrive que le maximum de vitesse, que l'on observe le plus souvent dans la soude à N/100, soit décalé et se place à N/500, ou à N/50, même à N/10. Souvent aussi, la sensibilité des spermatophores est la même dans les solutions de soude à N/100, N/500, N/1000, les ouvertures ayant lieu en 2 à 5 minutes. Chez d'autres individus on peut observer un ralentissement progressif en plaçant les appareils dans des solutions de concentrations décroissantes (N/100, N/200, ... N/1000). Fréquemment, il arrive que la pression de déhiscence développée par la soude millinormale ne soit pas suffisante pour déclencher l'ouverture de l'ampoule ; une certaine proportion de spermatophores reste réfractaire dans les lots examinés, malgré des changements répétés de la solution sodée, proportion variable entre 1 et 40 $^{o}/_{o}$. Les tableaux III et IV donnent un aperçu des vitesses relatives aux différentes dilutions.

Il est à noter que l'eau pure, en sa qualité d'ampholyte, se comporte comme une base vis-à-vis des substances constituantes du spermatophore qui sont acides. Les appareils spermatiques réagissent dans l'eau dont le pH est voisin de la neutralité, ou légèrement acide (pH 6,7), de la même manière que dans les solutions alcalines : les spermies sont dévaginées et le colloïde qui les baigne est coagulé (ce qui ne se produit pas en solution acide faible, à pH 6, tableau IV) ; il s'imbibe d'eau et gonfle

TABLEAU III.

Durée de l'éclatement de tous les spermatophores placés dans des solutions de soude à différentes concentrations.

pH	Concentration de la soude	*E. prideauxi*				
		N° 2 et 3	N° 4	N° 5	N° 46	N° 48
14,05	Normale				1'40"	
	N/2				7'	
	N/5	15 min.			6' 35"	8' 30"
13,07	N/10	12'			6' 10"	21'
	N/20	5'				
	N/50				11' 10"	30 % éclatent en 1 h.
12,12	N/100	3'		2'	2'	4'
	N/200	4'		2' 45"		
	N/300			5' 15"		
	N/400			5'		
	N/500	3'30"	2'	7' 30"	1' 45"	
	N/600		9' 30"	9'30"		
	N/700		10' 30"	12'		
	N/800		10' 45"	12'		
	N/900		12'	15'45"		
11,13	N/1000	50'	8' 30"	22'	1' 30"	

TABLEAU IV.

Variation du nombre des éclatements des spermatophores suivant le pH des solutions

EUPAGURUS PRIDEAUXI N° 47

pH	Nombre d'éclatements en 1 heure.	Temps de l'éclatement de tous les spermatophores.
6,0	0	
6,5	40%	
7,0	30%	
7,5	3%	
8,0	12%	
8,5	100%	5 min. 30 sec.

également, quoique moins que dans la soude. Malgré la faible dissociation de l'eau pure, les ions OH^- agissent déjà sur la suture pour commencer à la dissoudre, puisque l'on obtient des éclatements ; mais ceux ci sont en nombre limité, variable entre 2 et 90 °/₀ (pourcentage qui n'a pas été dépassé dans nos essais) selon les individus qui ont fourni les appareils.

En étudiant comparativement les actions de la soude, on peut dissocier les deux facteurs qui interviennent dans la déhiscence de l'ampoule. C'est, d'une part, la lyse de la suture, qui semble proportionnelle à la teneur alcaline des solutions et atteint son maximum dans la liqueur normale (la plus concentrée des solutions que nous ayons employées) et, d'autre part, le gonflement du contenu du spermatophore, consécutif à l'imbibition d'eau. Celui-ci présente un maximum aux environs de la concentration N/100, soit vers pH 12, et décroît de chaque côté de cette valeur. Précisons, toutefois, que les deux phénomènes se produisent simultanément à toutes les concentrations, mais comme leur maximum d'efficacité a lieu pour des teneurs différentes en alcali, nous trouvons deux maxima dans la courbe des vitesses d'éclatement.

La forme des déhiscences confirme ces différences d'action. Dans les solutions allant de N à N/10, les contenus spermatiques ne sont pas complètement expulsés de la coque (fig. 3), sauf quelques exceptions. La pression développée à l'intérieur de la coque reste peu importante ; la suture s'ouvre simplement en une large fente, sans que le contenu gonflé soit expulsé ; il n'est que déplacé vers l'ouverture qu'il maintient béante. Dans les solutions diluées (N/50 à N/1000 et au-delà) la sortie des masses spermatiques coagulées se fait avec force, elles s'échappent tout à fait de la coque, et présentent, une fois sorties, un volume très supérieur à celui qu'elles occupaient dans l'ampoule (fig. 5, Pl. I).

Fig. 3. Eclatement de spermatophore dans la soude normale. G. = 80.

Coagulations et dissolutions. — Dans les alcalis, les divers colloïdes du spermatophore se comportent de façon différente suivant leur nature.

a) Contenu spermatique. — Les spermies restent à l'état solide après leur dévagination. Leur vitesse de dévagination et leur gonflement atteignent tous deux un maximum à pH 12, comme l'a montré Susaeta (1927). Au pH 13, correspondant à la solution décinormale, la membrane des éléments spermatiques est lysée et ne permet plus des observations sûres. Cette lyse dans les solutions à N/10 ou N/5 diminue le gonflement de la masse spermatique totale. L'alcalinité à laquelle se produit l'hydrolyse des spermies est à rapprocher de celle que Fauré-Fremiet (1924) trouve pour les œufs de *Sabellaria*, qui commencent à se lyser à pH 10, 5, et présentent un gonflement très grand à pH 12.

Le colloïde baignant les spermatozoïdes dans la coque, est floculé sous l'influence des ions OH^-. Il semble se séparer en un réseau solide, élastique, entre les mailles duquel il y aurait une substance soluble dans l'eau, indécelable à la vue, incolorable aussi. Sa solubilité croîtrait avec le pH du solvant jusqu'à une certaine valeur que nous trouvons comprise entre pH 11, 62 environ (N/500) et pH 13 (N/10), suivant les spermatophores. C'est à ces valeurs que le volume des masses expulsées atteint son maximum. Il faut 30 à 60 secondes pour que cette floculation s'effectue à travers la coque. On peut s'en rendre compte lors des premiers éclatements de spermatophores dans une solution alcaline. Les masses expulsées au début de l'expérience sont presqu'invariablement dispersées, les spermatozoïdes tous éloignés les uns des autres, quelques uns complètement séparés (pl. I fig. 4). En cherchant à les dissocier à l'aiguille on s'aperçoit qu'ils sont retenus ensemble par un coagulum élastique. Peu après, les paquets expulsés très gonflés, sont plus denses, les spermies restant collées les unes aux autres de façon indissociable. Ensuite, ayant été coagulés dans la coque, les contenus sont souvent expulsés en conservant la forme du spermatophore (Pl. I, fig. 5), mais d'un volume supérieur. Si on coupe les spermatophores

non éclatés, le contenu sort gonflé et floculé de façon complète. Ces phénomènes s'accentuent à mesure que les solutions employées sont plus concentrées. On peut établir une série régressive dans l'expansion du contenu spermatique au cours de l'expérience, la coagulation se faisant progressivement, si les éclatements ne sont pas trop vite terminés. Ceci explique que la majorité des appareils éclate au début de l'expérience.

b) *Coque et suture.* — Ces parties sont des gels relativement rigides. Les ions OH^{-} les dilatent peu à peu, proportionnellement à leur concentration dans les solutions. A des teneurs élevées ils finissent par les hydrolyser entièrement. Cette action commence plus vite pour la suture qui est un peu soluble déjà à de faibles concentrations (N/100, N/1000) et complètement dissoute aux concentrations N/10 et au delà. La coque est plus dilatable dans la solution normale que dans les solutions à N/100 et N/1000. Dans la liqueur normale elle subit déjà une hydrolyse qui conduit à la séparation de certains de ses constituants. On peut se rendre compte que la soude contribue à la séparation du radical amino-propionique de la cystine, en donnant *in situ* des sulfures alcalins pouvant ensuite se transformer en sulfure de plomb, par addition d'acétate de plomb, selon la réaction classique des groupements thioaminés.

La propriété de se dissoudre dans les alcalis relativement peu concentrés est commune aux substances mucoprotidiques dont la coque est très voisine. C'est ainsi que le mucus, qui entoure les productions spermatiques dans le canal déférent, est facilement soluble dans toutes les solutions alcalines, même les plus diluées.

Quoique de nature différente, l'embase subit aussi une dissolution progressive dans les alcalis. Cette action, réduite à un fort gonflement dans les solutions faiblement concentrées devient importante dans la soude normale : il y a liquéfaction presque complète de la substance.

Ammoniaque. En solution dans l'eau son action est comparable à celle de la soude.

Potasse. La potasse agit également comme la soude. Nous ne l'avons employée, chez ce Pagure, qu'à la concentration de 40 %. Elle produit un fort gonflement de la coque et coagule le contenu à cette teneur (Pl. I., fig. 6).

Eau de chaux. La chaux a été utilisée seulement en solution concentrée, à pH 12,2 environ.

Comme dans les alcalis précédents, il se produit un gonflement du réservoir, mais surtout de la coque, qui s'écarte un peu du contenu spermatique moins dilaté. La masse des spermies est coagulée et gonfle moins que dans la soude au même pH. Il y a une différence nette avec les réactions habituellement produites par les alcalis, attribuable sans doute à l'ion Ca^{++}, dont nous verrons, par la suite, le rôle particulier à l'égard des déhiscences. La coque, par contre, semble dissoute davantage que par la soude ; elle devient molle et se déforme ; un renflement se fait généralement près de la pointe, latéralement. Lorsque les déhiscences se produisent, c'est par ce renflement qui crève que l'expulsion du contenu se fait, de façon incomplète, d'ail-

leurs (fig. 4, A et B). Les spermatophores de tous les mâles ne réagissent pas de pareille manière, certains sont tous réfractaires, d'autres éclatent en partie ; ceux de quelques individus s'ouvrent tous assez rapidement (10 minutes environ).

Dans l'action des alcalis sur les productions spermatiques il intervient aussi deux facteurs .

a) une chute de la pression osmotique, pour les valeurs inférieures à N/10 de l'alcalinité, et identique à celle qui se produit dans les solutions acides. Elle agit, comme d'habitude, sur la dévagination des spermies.

b) un gonflement de tout le spermatophore qui augmente proportionnellement jusqu'à une valeur donnée du pH, assez variable suivant les individus, Pour une concentration alcaline plus élevée le gonflement est moins grand, par suite de la coagulation du liquide interspermatique qui intervient.

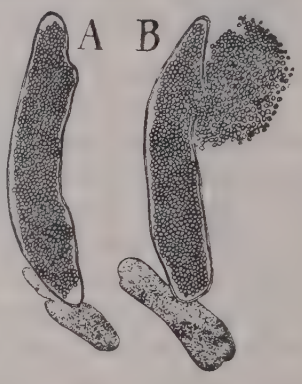


Fig. 4. G = 90. Spermatophore dans l'eau de chaux. A. Renflement latéral. B. Eclatement.

La fixation d'eau par les molécules des substances en cause est toujours supérieure à celle qui se produit dans les milieux acides ; ceci s'explique peut-être aussi par le fait que la charge positive des ions protéiques retient davantage d'ions OH^-, et partant plus d'eau.

Nous avons fait remarquer la brusque dilatation des spermatophores au début des expériences. Elle aboutit à l'expulsion des masses spermatiques en nuages dispersés, suivis d'autres éclatements en paquets denses. Les premières déhiscences à sperme éparpillé durent 30 secondes environ. Bien qu'il s'agisse ici de modifications du volume des contenus spermatiques et non de variations de viscosité, il est peut-être possible de rapprocher la succession de ces deux phénomènes des observations d'Ettisch et Schulz (1933) sur la viscosité d'une solution de caséine additionnée de soude. Les auteurs décomposent cette action en deux temps : une réaction primaire immédiate et rapide, qui a pour effet d'augmenter la viscosité de la solution, et une réaction secondaire, qui lui succède, avec une chute de la viscosité, se stabilisant lentement.

En résumé, les ions OH^- agissent sur les spermatophores de façon inverse aux ions H^+. Ils provoquent facilement la déhiscence qu'on n'obtient pas, en général, dans les solutions acides.

Actions successives des ions H^+ et OH^- sur les spermatophores.

Etant donné l'antagonisme entre les actions acides et alcalines sur les spermatophores, on peut rechercher quelle est leur influence réciproque en les faisant inter-

venir successivement sur les mêmes appareils. Dans un cas, l'on fait précéder l'action de l'alcali par celle de l'acide, dans l'autre, on suit l'ordre inverse.

Modifications apportées par les acides à l'action consécutive de la soude. — Lorsque l'on fait agir une solution acidulée par HCl, par exemple, sur les spermatophores, avant de les placer dans la soude, celle-ci n'agit plus avec la même efficacité sur les appareils.

Il se produit surtout un ralentissement de la vitesse des déhiscences par la soude. Mais, comme toujours, selon les individus, ce ralentissement est variable, parfois nul, il devient, d'autres fois, considérable : les éclatements d'un nombre important de spermatophores sont alors complètement arrêtés par l'intervention des ions H^+. Le pourcentage des appareils réfractaires variait de 25 à 60 % dans nos expériences. On peut aussi noter que la concentration des ions OH^{--} de la solution sodique que l'on fait agir ensuite joue un rôle important. C'est ainsi que, après le passage dans une solution normale d'acide chlorhydrique on peut faire s'ouvrir les spermatophores en 18 minutes par la soude à N/10, tandis que l'on ne parvient pas à obtenir une seule déhiscence au moyen de la soude millinormale, qui, employée seule, est efficace.

L'acide carbonique produit le même retard à l'éclatement, variable selon les individus qui ont fourni les spermatophores.

Les masses spermatiques expulsées ont la forme de boudins, et sortent lentement de la coque, le plus souvent. Le colloïde autour du sperme est coagulé, mais dilatable.

La soude produit cependant des gonflements des appareils (figs. 5 et 6) aussi grands que si elle intervenait directement (ils sont même plus importants après l'action du gaz carbonique de l'eau de Seltz, figs 7, 8 A et B). Il semble que l'acide ait modifié surtout la suture, en la rendant moins soluble dans les alcalis, puisque les autres parties de l'ampoule ne sont pas moins gonflées.

En remettant les productions spermatiques dans l'acide chlorhydrique après le passage dans la soude, il se fait une coagulation et une rétraction des colloïdes qui réduit la dilatation de l'ampoule. Celle-ci ne reprend toutefois pas le volume qu'elle avait dans le premier bain acide, mais reste un peu distendue.

Modifications apportées par la soude à l'action consécutive de l'acide chlorhydrique.

Si l'on remplace la solution alcaline qui agit sur les spermatophores par de l'acide chlorhydrique normal, déci ou centinormal, il se produit une rétraction de l'ampoule qui diminue de volume. Le mucus qui les entoure, qui était dissous, est coagulé ; l'embase, cependant, reste transparente. Le contenu spermatique, devenu peu dissociable, s'opacifie. Les éclatements qui se produisaient sont arrêtés définitivement.

Toutefois, en replaçant dans la soude centinormale les ampoules ayant subi successivement les deux actions précédentes, il y a de nouveau un gonflement et un éclaircissement des spermatophores et les éclatements reprennent, les contenus expulsés sont coagulés et indissociables. Ces déhiscences peuvent être aussi rapides que dans la soude employée seule, soit en deux à trois minutes.

Dans les phénomènes décrits ci-devant, les réactions provoquées par les ions H^+ ou OH^- sont réversibles, tout au moins dans nos limites de temps (1 heure). On sait, en effet, que les équilibres des réactions des substances protéiques avec les électrolytes ne s'établissent qu'après un temps assez long, allant de quelques heures à 24 heures ou plus (Loeb, 1924 ; Pauli, etc.). Employées dans un ordre ou dans l'autre, les solutions acidulées ou alcalinisées produisent le retour du spermatophore à peu près au même état que celui atteint directement par l'action du milieu acide ou alcalin.

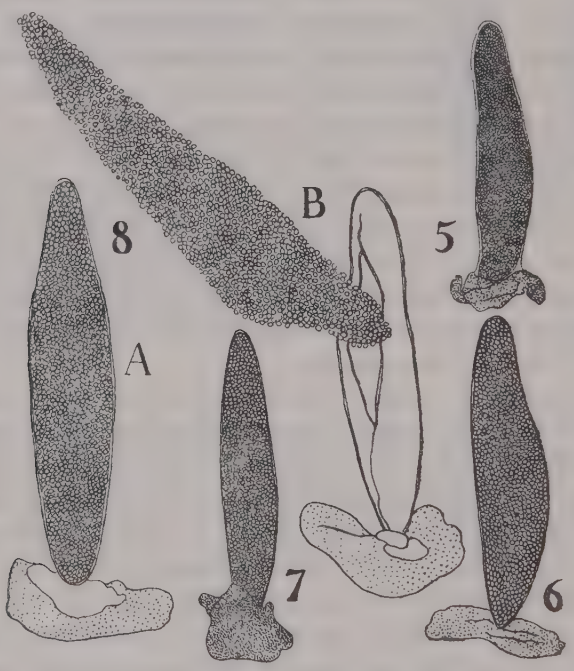


Fig. 5. Spermatophore dans HCl N/10. G = 90.
Fig. 6. L'acide a été remplacé par NaOH N/10. G = 90.
Fig. 7. Spermatophore dans l'eau de Seltz. G = 90.
Fig. 8. L'eau de Seltz a été remplacée par NaOH N/100.
A. Gonflement. B. Eclatement. G. = 90.

Il y a seulement un retard, plus ou moins grand, à ces actions, dû, sans doute, à ce qu'une partie des ions sert à neutraliser ceux de charge opposée qui les ont précédés et se sont fixés aux molécules protéiques. Ceci expliquerait pourquoi, si la solution ne possède pas une forte alcalinité, les déhiscences ne sont pas obtenues après le séjour dans l'acide.

2. *Rôle de la tension osmotique des solutions.*

Dans le milieu colloïdal où se trouve placé le spermatophore à l'intérieur du canal déférent, nous avons vu qu'il existait une certaine pression osmotique, évaluée ap-

proximativement au voisinage de 7 atmosphères. On peut penser qu'elle intervient, en même temps que l'acidité, pour empêcher la déhiscence des ampoules avant leur sortie du conduit génital.

Il est malaisé de déterminer rigoureusement la part qui revient aux différences osmotiques des solutions expérimentées sur les spermatophores, car on ne peut isoler cette action des autres facteurs, tels que la concentration en ions hydrogène et la teneur en cations, qui interviennent simultanément. La coque fonctionne comme une membrane dont la perméabilité varie sous l'action des ions, des électrolytes.

Nous n'avons pas étudié l'action d'une série continue de pressions osmotiques régulièrement décroissantes, comme SUSAETA l'a fait pour les spermies du Crabe, car la sensibilité des appareils spermatiques aux variations de la tension osmotique extérieure est faible. Nous avons comparé seulement les actions de l'eau de mer et d'une solution isotonique de glucose à celles produites par l'hypotonie de l'eau distillée et l'hypertonie de solutions salines de concentration double de celle de l'eau de mer.

Comportement des spermatophores soumis à la pression osmotique de l'eau de mer.

D'après ce que nous avons cru pouvoir établir, les spermatophores une fois placés dans l'eau de mer se trouvent dans un milieu hypertonique par rapport à celui du conduit génital. Ils subissent en outre, l'action du pH alcalin et des ions des sels qui y sont contenus.

L'ampoule conserve à peu près son volume initial (Pl. I, Fig. 7). La coque peut se dilater légèrement par imbibition, tandis que son contenu se plasmolyse quelque peu et se décolle de la paroi, vers le bas du réservoir. De plus, de l'eau pénètre dans la coque en augmentant la pression interne. On peut le constater en ouvrant l'ampoule avec des aiguilles ; son contenu s'échappe en se dissociant dans l'eau, poussé plus fortement que lorsqu'on la déchire dans le mucus du conduit génital.

Afin d'éliminer l'influence qui pouvait être attribuée aux sels dans l'action de l'eau de mer, nous avons soumis les spermatophores à une solution de glucose de tension osmotique voisine de la sienne. Nous avions trouvé pour abaissement du point de congélation de l'eau marine $\Delta = -2°04$. La solution de glucose a été établie à une concentration correspondant à $\Delta = -2°16$ et employée à différents pH proches de la neutralité : pH 6,6 ; pH 7,2 et à pH 8,0.

Voici les résultats que l'on observe chez *E. prideauxi* : le volume de l'ampoule est nettement accru comme l'indiquent dans le tableau V les mesures de longueur et de largeur maxima dans chaque milieu. Le contenu spermatique, comme dans le cas de l'eau de mer, est rétracté, à peu près suivant les mêmes proportions.

On peut également se rendre compte de la pression interne augmentée, en faisant couler le contenu par une déchirure de la coque. Le colloïde n'est pas coagulé et les éléments spermatiques se dispersent dans la solution. La valeur du pH, dans les limites que nous avons indiquées ci-dessus, ne modifie nullement les résultats obtenus.

TABLEAU V.

Variations de la longueur et de la largeur des spermatophores avec la pression osmotique du milieu

EUPAGURUS PRIDEAUXI N° 26

Canal déférent		Glucose				Eau de mer			
Coque		Coque		Contenu		Coque		Contenu	
LONG. en μ	LARG. maxim. en μ	LONG. en μ	LARG. en μ	LONG. en μ	LARG. en μ	LONG. en μ	LARG. en μ	LONG. en μ	LARG. en μ
335	65	368	75	320	71	330	61	300	57
320	50	338	65	300	61	342	80	304	71
312	65	310	75	290	71	335	61	312	57
308	60								
320	82								
Moyennes									
319μ	64μ	339μ	71μ	303μ	67μ6	336μ	66μ	305μ	61μ6

Comportement des spermatophores dans des solutions salines de concentration différentes de celle de l'eau de mer.

En employant l'eau de mer ou une solution isotonique de chlorure de sodium diluées de moitié, on observe les mêmes faits que dans l'eau marine pure. Le volume du contenu est à peu près identique dans les deux cas. Il y a accroissement de la pression interne, mais insuffisant pour provoquer des déhiscences, dans la généralité des cas.

Dans une solution de chlorure de sodium de concentration double de celle de l'eau de mer, il se fait une rétraction de toute l'ampoule, due à l'hypertonicité de la solution. La contraction du contenu est notablement plus grande que dans les solutions plus diluées ; il se trouve complètement séparé de la coque (voir tableau VI). Le colloïde interne est encore fluide autour des spermies qui se séparent lorsqu'elles s'échappent si on ouvre le réservoir. Une solution saturée de NaCl agit de façon semblable. Cependant, le sol colloïdal entourant les spermies se coagule en 5 à 10 minutes en une masse indissociable.

Comportement des spermatophores dans l'eau distillée.

Les solutions salines ci-dessus constituaient des milieux hypertoniques pour le spermatophore. Nous allons examiner le comportement des ampoules dans le milieu fortement hypotonique formé par l'eau distillée neutre (pH 7,08) ou légèrement acide (pH 6,7). Cette neutralité étant acide-alcaline et non électrique, nous avons vu que les ions OH^- intervenaient en même temps que l'hypotonicité de l'eau.

La tension osmotique externe est alors de 1 atmosphère.

Les spermatophores réagissent de façon très différente de leur comportement dans les solutions à tension plus élevée. Ils sont gonflés à travers la coque par imbibition d'eau du mucus interne et des spermies. Ces dernières se dévaginent et augmentent de volume, comme c'est la règle dans les solutions hypotoniques ; le colloïde est également gonflé : la coque, distendue, augmente de volume. Elle résisterait à l'accroissement de tension interne, n'était la ligne de suture, moins solide, qui cède souvent. Il se produit alors des éclatements ; le nombre de ceux-ci n'atteint pas tous les spermatophores chez *E. prideauxi*, le pourcentage en est variable selon les individus : il s'échelonne de 2 à 90 °/₀ en 1 heure de délai. Les déhiscences se font surtout pendant le premier quart d'heure de l'expérience.

Le colloïde interne floculе, en se dilatant beaucoup lorsque le contenu se trouve projeté hors de la coque, sous la poussée de la pression interne accrue. La coagulation n'est pas immédiate et si les premiers éclatements sont rapides, les contenus sortent dissociés.

En comparant les données ci-dessus on voit que les sels de l'eau de mer paraissent diminuer fortement l'imbibition de la masse spermatique par l'eau ; de même, la solution isotonique de glucose. La pression osmotique externe joue donc un rôle dans l'imbibition du colloïde central et des spermies, indépendamment de l'action probable

TABLEAU VI.

Variations de la longueur et de la largeur des spermatophores avec la concentration saline des solutions.

EUPAGURUS PRIDEAUXI N° 35

	Longueur en μ		Largeur en μ	
	Coque	Contenu	Coque	Contenu
Eau de mer	380	350	90	79
Eau de mer diluée de moitié	390	390	88	78
Solution de NaCl isotonique avec l'eau de mer	380	350	78	70
	380	360	80	70
Même solution de NaCl diluée de moitié	380	355	80	65
Solution de NaCl de concentration double de celle de l'eau de mer	358			
	365	330	88	68
	380	342	72	60

des cations, puisqu'il n'y a pas de différence sensible avec le glucose isotonique, dépourvu de sels.

En définitive, nous trouvons que les matières composant le spermatophore se comportent comme les gels et sols organiques soumis aux variations osmotiques du milieu. Ils ont les propriétés d'élasticité, de coagulation, de gonflement qui sont communes aux colloïdes protidiques. Le système de substances à l'intérieur du réservoir réagit comme le protoplasme cellulaire, en perdant de son solvant dans les solutions hypertoniques ; la coque suit le même mouvement, mais avec un certain retard, attribuable à sa semi-rigidité qui lui confère une cohésion plus élevée ; seules des solutions à forte pression osmotiques peuvent la faire se rétracter.

Les résultats obtenus montrent aussi que le comportement des spermatophores dans les milieux différant osmotiquement est parallèle à celui que SUSAETA (1927) décrit pour les spermies de Décapodes, mais à une échelle beaucoup moins sensible. La coque et le fluide colloïdal interne amortissent les effets des solutions sur les spermatozoïdes, en formant une enveloppe autour d'eux, ce qui a permis, comme nous l'avons vu, d'étendre la gamme des actions alcaline et acide à des valeurs plus élevées que n'a pu le faire l'auteur précité.

3. *Rôle des cations dans les solutions.*

En quittant le conduit déférent dans les conditions naturelles, l'appareil spermatique entre en contact avec les sels contenus dans l'eau de mer qui est un milieu à forte pression osmotique ; de plus, le pH alcalin de ce milieu favorise l'action des cations sur les protides du spermatophore.

De nombreuses recherches ont démontré l'importance fondamentale de certains cations dans les phénomènes vitaux. Il s'agit surtout des métaux alcalins, sodium et potassium ou alcalino-terreux, calcium et magnésium. Leur action est due en partie à la charge qu'ils portent et qui intervient directement pour modifier les colloïdes de la matière vivante. Les expériences ont prouvé, de plus, que ces ions exerçaient des actions antagonistes sur les biocolloïdes.

Nous nous sommes bornés à l'étude des effets dûs aux principaux cations alcalins et alcalino-terreux qui entrent dans la composition de l'eau marine. Voici, d'après JONHSTONE (1923, in LEGENDRE, 1925) leurs proportions respectives dans l'eau de la Méditerranée.

Na	30,37 pour 100 gr. de sels totaux.
K.....	1,09
Ca	1,26
Mg	3,53.

Les sels employés ont été des chlorures, dans chaque cas ; à l'exception de

$CaCl^2$, c'est la forme sous laquelle les ions métalliques sont les plus abondants dans l'eau marine.

Afin d'éliminer le facteur pression osmotique des solutions, nous avons établi des solutions isotoniques avec l'eau de mer, de chacun des quatre chlorures. Pour déterminer l'antagonisme possible entre les ions métalliques, nous avons ensuite fait intervenir des mélanges deux à deux, en quantités égales, (1) de ces solutions. Le pH de ces milieux salins était voisin de 7,0, donc inférieur au pH de l'eau de mer. On sait que les sels agissent sur les protéines de façon différente suivant la concentration en ions H de leur solution. Lorsque celle-ci est supérieure au pH du point isoélectrique, la protéine se combine au cation du sel, comme l'a démontré J. Loeb (1924). Etant donnée l'acidité des substances du spermatophore, nos solutions agissent par leur cation. Mais les différences entre les modifications produites par chaque chlorure sur le spermatophore ne sont pas nettement visibles à l'examen morphologique. On peut cependant les rendre plus sensibles, ou les faire apparaître, en faisant agir une solution de soude après le traitement salin. En effet, le passage par une solution salée, pour peu qu'il ait une durée suffisante, modifie l'action des ions OH^- que l'on fait intervenir ensuite.

Rappelons brièvement ce qui se passe dans l'eau de mer normale.

Déhiscences. — Sauf exception, elles ne se produisent pas dans le milieu marin. Quand il y en a, elles paraissent dues à une diminution de la résistance de la ligne de suture.

Gonflement. — Il a été examiné ci-dessus (p. 33).

Coagulations. — Les spermies, non dévaginées dans l'eau de mer ne changent pratiquement pas d'état, du moins de façon visible.

Le colloïde interne reste à l'état de sol, très fluide, pendant plusieurs jours (l'action continue de l'eau marine finit, cependant, par le coaguler, soit par suite de la déshydratation progressive, produite par l'hypertonie du milieu, soit par l'autolyse des spermies. D'opaque qu'il était devenu dans l'eau de mer, le spermatophore reprend sa transparence lorsque ses constituants internes sont pris irréversiblement en gel).

Les embases ne gonflent pas, mais sont coagulées et deviennent opaques. Rendues visqueuses, elles adhèrent fortement aux surfaces avec lesquelles elles entrent en contact, en diffluant sur les bords. Le mucus autour des appareils spermatiques, dans le canal déférent, est aussi coagulé.

---

(1) Nous n'avons pas cherché à équilibrer les ions de nos mélanges salins selon les proportions connues qui permettent le fonctionnement cellulaire normal (Na : 100 parties, Ca 1,5, K : 2,2). (J. Verne, 1939), de façon à accentuer les antagonismes produits par des solutions non physiologiquement équilibrées.

Action des chlorures alcalins et alcalino-terreux en solutions isotoniques avec l'eau de mer.

Les solutions de chlorures de sodium, potassium, magnésium et calcium, établies de telle façon que l'abaissement de leur point de congélation corresponde à celui de l'eau de mer, ont été employées pures ou mélangées deux à deux à parties égales.

Déhiscences. — Dans les solutions pures, comme dans les mélanges de chlorures, il n'y a pas d'éclatement des spermatophores.

Gonflements. — Les coques gonflent un peu plus que dans l'eau de mer. Le contenu spermatique réagit à peu près comme dans le milieu marin. Le tableau VII donne des mesures des spermatophores placés dans chacun des quatre chlorures. Il montre déjà nettement que les ions métalliques n'ont pas un égal pouvoir de pénétration à travers la coque. L'excès d'imbibition est plus grand avec les chlorures à cations monovalents qu'avec $CaCl^2$.

Les mélanges de chlorures se comportent sensiblement comme les sels isolés.

Coagulations. — Dans les quatre chlorures, les contenus spermatiques deviennent opaques comme dans l'eau de mer. La solution de $CaCl^2$ provoque ensuite, en une demi-heure à une heure environ un éclaircissement de l'ampoule, dû à la coagulation, en masse indissociable, des spermies et du colloïde qui les baigne. Ce colloïde n'est ,en effet, pas floculé dans les différents chlorures, au début de l'expérience : les spermatozoïdes se dispersent si on ouvre l'ampoule. C'est seulement plus tard que, comme dans l'eau de mer normale, la floculation intervient.

Les embases sont devenues très opaques et collantes, surtout dans les chlorures de magnésium et de calcium, ce qui confirme l'action générale de ce dernier sel sur l'élasticité protoplasmique (Fauré-Fremiet, 1929).

Le mucus autour des spermatophores est également coagulé.

Effet relatif des cations sur le gonflement et les déhiscences produits dans la soude.

La soude peut être employée comme « réactif » de modifications invisibles directement, apportées par les cations sur les appareils spermatiques.

Nous avons procédé de deux façons, pour contrôler le rôle des cations sur l'action des ions OH^-.

1° En alcalinisant la solution saline.

2° En faisant intervenir la soude après le passage dans l'eau chlorurée.

1° *Alcalinisation de la solution saline.*

Eau de mer alcalinisée. — L'eau de mer est amenée au pH 9,0 au dessous de la limite d'alcalinité où se fait la précipitation des sels de calcium, en ajoutant une solution de soude à N/100. Les spermatophores soumis à l'action de cette eau se comportent de la façon habituelle dans l'eau marine normale, et ne s'ouvrent pas.

TABLEAU VII.

Longueurs et largeurs comparatives des spermatophores dans les solutions de chlorures isotoniques avec l'eau de mer

EUPAGURUS PRIDEAUXI N° 26

	Longueur en μ		Largeur en μ	
	Coque	Contenu	Coque	Contenu
Canal déférent moyennes du tableau V.	319	collé à la coque	64	
NaCl	360	340	80	70
	358	350	73	70
Moyennes (en μ) :	359	345	76,5	70
KCl	359	317	75	65
	350	310	71	64
Moyennes (en μ) :	354,5	313,5	73	64,5
$MgCl^2$	333	313	65	63
	333	306	65	56
	347	317	72	59
Moyennes (en μ) :	338	312	67	59
$CaCl^2$	344	313	68	57
	347	313	65	57
Moyennes (en μ) :	345,5	313	66,5	57

En employant de l'ammoniaque à 22° Bé. pour alcaliniser l'eau de mer, à raison de 1 à 3 gouttes dans 10 cc. d'eau, soit à un pH de 9 à 9,3, il peut y avoir des éclatements, par la pointe, de 10 °/₀ environ des appareils ; les valves de la coque se séparent au sommet, après l'expulsion des spermies. Il est à noter que cette déhiscence par la pointe est comparable à celle qui se produit dans l'eau de mer normale, dans les rares cas où il y en a. Elle diffère de l'éclatement latéral, qui fait suite au gonflement provoqué par l'action des ions OH^- quand ils agissent seuls. Tout se passe comme si l'ammoniaque renforçait l'action dissolvante de l'eau de mer sur un certain nombre de sutures.

En somme, aux pH utilisés, les sels de l'eau de mer empêchent presque complètement les déhiscences de se produire.

Solution de NaCl isotonique avec l'eau de mer, alcalinisée.

Nous avons alcalinisé notre solution salée en y ajoutant de la soude normale dans les proportions respectives suivantes : 1/5e, 1/10e, 1/50e, 1/100e, 1/150e. Dans les deux premières solutions ainsi établies les éclatements se produisent à une vitesse normale pour la concentration en ions OH en milieu non salin. Aux autres dilutions l'action des ions OH^- est presque entièrement bloquée. Voir le tableau. VIII.

TABLEAU VIII

Durées relatives des déhiscences des spermatophores dans la soude à différentes concentrations et dans une solution de NaCl, isotonique avec l'eau de mer, alcalinisée par la soude normale.

EUPAGURUS PRIDEAUXI N° 48

Concentration de la soude	Temps de l'éclatement de tous les spermatophores	Proportion de Soude normale ajoutée à la solution de NaCl	Temps de l'éclatement de tous les spermatophores
N/5	8 min. 30 sec.	20 %	10 min.
N/10	21 min.	10 %	25 min.
N/50	30 % d'éclatements en 1 h.	2 %	2 éclatements en 1 heure.
N/100	4 min.	1 %	0 éclatement

2° *Action de la soude après le passage dans la solution saline.*

Après avoir fait passer les spermatophores dans les solutions salines, nous avons presque toujours fait agir la solution centinormale de soude, qui, seule, produit généralement le maximum d'effet. Parfois des solutions déci ou millinormale ont servi. L'alcali a été appliqué directement après décantation, et le premier bain rejeté pour éliminer l'excès du sel restant. Lorsque les éclatements tardaient à se produire, la solution était changée trois ou quatre fois dans l'heure.

L'examen des résultats obtenus dans les différents cas est abordé ci-après.

Application de soude après l'eau de mer. — Lorsqu'on a fait agir l'eau de mer au moins un quart d'heure pour que les sels aient le temps de pénétrer, la déhiscence de nombreux spermatophores, dans la soude ajoutée ensuite, est arrêtée. Chez beaucoup d'individus, on trouve que 25 à 40 °/₀ des ampoules n'éclatent pas. Chez d'autres on observe des déhiscences terminées en une dizaine de minutes ; mais les spermatophores témoins, placés dans la soude centinormale, s'ouvrent toujours plus rapidement. Si l'action de l'eau de mer est très courte, 5 minutes, par exemple, il peut n'y avoir aucun ralentissement des effets dus à l'action de la soude.

Application de la soude après l'action du glucose. — On peut se rendre compte que le retard à l'ouverture dans la soude est bien attribuable aux sels de l'eau de mer, en faisant agir la même solution sodique sur des spermatophores sortant du glucose en solution isotonique avec l'eau marine et dans laquelle les éclatements n'ont pas lieu. Les ampoules s'ouvrent alors toutes, en un laps de temps voisin de 5 minutes, c'est-à-dire aussi vite que dans la soude appliquée directement à leur sortie du canal déférent. Le contenu des appareils se disperse dans le liquide ambiant. Les sels dissous dans l'eau de mer agissent donc nettement pour retarder la déhiscence des ampoules provoquées par l'emploi de la soude.

Application de la soude après les chlorures alcalins et alcalino-terreux. — Les chlorures de sodium et de calcium retardent les déhiscences, parfois considérablement. Après le premier de ces sels, les éclatements se font en général en une 1/2 heure. Si le séjour dans l'eau salée a été court (5 minutes), il n'y a pas de ralentissement par rapport à l'effet de la soude seule. Si l'on augmente la concentration de la solution saline pour l'amener à être double de celle de l'eau de mer, les éclatements par la soude sont encore un peu ralentis.

$CaCl^2$ agit plus énergiquement : beaucoup d'ampoules ne s'ouvrent pas (10 à 90 °/₀, selon les cas).

KCl est plus irrégulier, il ralentit quelquefois, mais pas toujours, les éclatements.

MgCl2, après 1/4 d'heure ou 1 heure, ne gêne aucunement l'action de la soude et permet aux ampoules de s'ouvrir en 3 minutes en moyenne.

L'action des différents cations sur les spermatophores d'*E. prideauxi* apparaît

ainsi comme spécifique et indépendante de la valence du cation, puisque $CaCl^2$ et $MgCl^2$ ont des effets diamétralement opposés.

Dans leur rôle inhibiteur vis-à-vis de la soude on peut placer les quatre chlorures en série décroissante dans l'ordre suivant : $CaCl^2$, NaCl, KCl, $MgCl^2$; ce dernier diffère des trois autres en ce que son action n'est pas antagoniste de l'anion OH^-.

D'une façon générale, la perméabilité des protides cellulaires pour les électrolytes est très sélective et parfois hautement spécifique. Elle dépend à la fois, ou séparément, de la valence et de la nature du cation, du pH et de la concentration des solutions, de leur teneur en CO^2 (F. C. Steward, 1932, in Seifriz, 1936), de la présence d'anions, de la nature des protides. C'est ce qu'a démontré Osterhout (1922) sur les espèces d'Algues voisine, *Valonia* et *Halicystis*, qui, dans la même eau marine, accumulent, l'une des sels de potassium, l'autre des sels de sodium.

La diversité des observations consignées par les auteurs qui se sont occupés de l'influence des sels sur le protoplasme cellulaire, tend à montrer que cette action dépend beaucoup de la nature des protéines en cause. Tantôt les cations monovalents ont une action inverse de celle des divalents (Loeb, 1924 ; Missbach, 1928 in Lepeschkin 1938 : Fauré-Fremiet, 1924 ; Fauré-Fremiet, 1929 in Lepeschkin, etc.). Tantôt la valence n'intervient plus, et on voit Na et Mg avoir une même action, opposée à celle de Ca (Gellhorn, 1929). Dans d'autres cas, un cation a un effet différent de celui de tous les autres, c'est ce que trouve Timmel (1928, in Lepeschkin) pour les sels de K d'une part, et ceux de Na, Li, Mg, Ba et Ca d'autre part. Enfin, on peut établir des séries de Hofmeister entre les sels de même valence (R. Lillie ; Plowe, in Seifriz, 1936). Mais, malgré que les actions observées soient souvent contradictoires, les données concordent, cependant, pour établir que les sels de Ca agrègent le protoplasme et ceux de Na le dispersent ; le protoplasme, en présence du premier cation, s'épaissit et acquiert des qualités d'élasticité accrues, tandis que, avec Na, il est moins épais et faiblement élastique (Fauré-Fremiet, Plowe, Seifriz, in Seifriz, 1936).

Nos observations sur l'adhérence et la viscosité de l'embase dans le chlorure de calcium, soulignent cette différence.

Application de la soude après les mélanges deux à deux de chlorures alcalins et alcalino-terreux. — L'action de la soude succédant à celle des mélanges de chlorures confirme les données fournies par les sels purs et révèle, en outre, l'antagonisme réciproque des cations.

Notons tout de suite qu'il n'y a guère de différence entre les résultats obtenus après 1 heure ou après un quart d'heure de séjour dans la solution saline. Tantôt il y a un ralentissement net, proportionnel à cette durée, le plus souvent il n'y a de différence ni dans un sens ni dans l'autre. Il n'y a donc pas nécessité de tenir compte de ce temps d'action tant qu'il n'est pas inférieur à 15 minutes.

Après le mélange KCl-$MgCl^2$, l'éclatement de tous les spermatophores est plus rapide qu'après KCl employé seul et aussi rapide qu'après $MgCl^2$ (déhiscences

finies en 3 minutes environ), et que dans la soude seule. $MgCl^2$ contrebalance l'action de KCl qui ne ralentit cependant pas celle de Mg.

Après KCl-NaCl, la soude fait ouvrir tous les spermatophores en 2 minutes et et demi et 30 minutes, soit plus rapidement qu'après chaque sel seul. L'accélération de l'action du potassium est plus grande que celle du sodium.

Après NaCl-$MgCl^2$, les déhiscences présentent un ralentissement par rapport à l'action de $MgCl^2$ et une accélération par rapport à celle de NaCl. Il y a antagonisme entre ces ions, chacun d'eux diminuant l'action de l'autre.

Le mélange $CaCl^2$-$MgCl^2$ produit une diminution de l'action inhibitrice de Ca et un accroissement de celle de $MgCl^2$; il y a, là aussi, antagonisme ionique dans l'action de ces deux sels vis-à-vis de la soude.

Après le passage dans $CaCl^2$-KCl il y a opposition entre les effets séparés de l'un et l'autre sel : le ralentissement qui est dû à KCl est augmenté et celui provoqué par $CaCl^2$ est diminué.

Enfin, le mélange $CaCl^2$-NaCl donne lieu au maximum de retard à la déhiscence causée par la soude : les deux sels ont une action synergique pour s'opposer aux ions OH^-.

De l'ensemble de ces observations, il résulte que les deux cations divalents ont des rôles opposés : le calcium renforce l'action inhibitrice des autres ions, de façon plus particulièrement visible dans le cas du mélange NaCl-$CaCl^2$. Le magnésium, au contraire, favorise l'éclatement des spermatophores dans la soude ; il est antagoniste de Ca et de Na, mais pas de K. Cette action est très sensible dans le couple $MgCl^2$-$CaCl^2$, où le rôle freinateur de Ca est nettement diminué.

Ces actions réciproques des ions métalliques sont mises en évidence dans le tableau IX. On voit que, rangés dans l'ordre croissant de leur antagonisme à l'égard de l'action ultérieure de la soude, les couples de cations forment la série suivante :

$$K\,Mg < Na\,K < Na\,Mg < Mg\,Ca < K\,Ca < Na\,Ca.$$

Cette série est presque la même que celle que Kohler (1936) établit dans son étude de l'antagonisme ionique dans l'imbibition des Laminaires. Rangée dans l'ordre croissant des antagonismes, elle est la suivante :

$$K\,Mg < Na\,K < Na\,Mg < K\,Ca < Mg\,Ca < Na\,Ca$$

Action de la soude après l'eau de mer décalcifiée. — Etant donné le rôle inhibiteur de l'ion calcium vis-à-vis de la soude agissant sur les substances du spermatophore, nous avons voulu voir s'il intervenait d'une façon spéciale par sa présence dans l'eau de mer.

Si on met les appareils dans l'eau de mer décalcifiée au moyen de l'oxalate de soude, les phénomènes sont les mêmes que dans l'eau de mer normale.

Mais si l'on fait suivre le passage dans l'eau de mer privée de calcium, par l'action

TABLEAU IX.

Durées des éclatements des spermatophores dans la soude, après l'action des chlorures alcalins et alcalino-terreux, mélangés deux à deux.

Solution saline isotonique avec l'eau de mer	*E. prideauxi* N° 7 (après 15' dans la solution saline)	*E. prideauxi* N° 8	
		après 15'	après 1 h.
$MgCl^2$ / KCl aa	2 min.	3 min.	3 min.
KCl / NaCl aa	2' 30''	2' 30''	30' 30''
$MgCl^2$ / NaCl aa	13'	7'	5' 30''
$MgCl^2$ / $CaCl^2$ aa	14'	5' 30''	25'
$CaCl^2$ / KCl aa	70 % en 1 h.	95 % en 1 h.	95 % en 1 h.
$CaCl^2$ / NaCl aa	50 % en 1 h.	70 % en 1 h.	0 en 1 h.

de la soude à N/100, on vérifie les prévisions et observe l'ouverture des spermatophores aussi vite que lors de l'application directe de soude ; les spermatozoïdes sortent aussi en masses dispersées au début, et en paquets coagulés ensuite.

Action de la soude après le passage dans l'eau de chaux. — L'antagonisme de l'ion Ca à l'action de la soude peut encore être vérifié en faisant agir celle-ci sur les spermatophores qui ont passé dans l'eau de chaux sans s'ouvrir, pendant 15 minutes ou 1 heure. Dans un cas comme dans l'autre, la vitesse des éclatements est diminuée plus ou moins. Les coques sont fortement gonflées (comme les embases devenues très hyalines), et s'ouvrent, à l'endroit du renflement subterminal produit par la chaux (p. 29) par dissolution de la suture. Il peut même arriver que le blocage par $Ca(OH)^2$ soit complet.

Action de la soude après l'eau de mer additionnée de $MgCl^2$.— De même, on peut confirmer le rôle antagoniste de $MgCl^2$ vis-à-vis des autres cations, par l'addition de ce sel à l'eau de mer normale (à raison de 10 % de solution isotonique de chlorure de magnésium ajouté à 90 % d'eau de mer) et en faisant agir ensuite la solution de soude centinormale. On constate que les déhiscences se font très rapidement, à une vitesse comparable à celle produite par la soude seule. Les témoins ayant passé par l'eau de mer pure sont retardés considérablement dans leurs éclatements.

Si on ajoute à l'eau de mer décalcifiée du chlorure de magnésium dans les mêmes proportions que ci-dessus, les éclatements produits ensuite par la soude sont aussi rapides que dans l'eau de mer sans calcium, non additionnée de $MgCl^2$. Dans les deux cas, les ouvertures ont lieu en 3 minutes environ.

Il ressort de l'ensemble des faits ci-dessus que les sels contenus dans l'eau de mer ont un rôle important sur le comportement des spermatophores.

La coque est très perméable aux ions métalliques des sels alcalins et alcalino-terreux qui la modifient, comme ils transforment aussi la masse spermatique à l'intérieur. Les divers aspects de cette action apparaissent successivement à mesure que l'on complique les modifications expérimentales du milieu. C'est ainsi que les sels employés seuls font paraître le rôle de la valence des cations par les variations du volume du spermatophore. L'action consécutive de la soude décèle une spécificité des ions métalliques vis-à-vis des protides en cause. Enfin, l'intervention des ions OH^- après le passage dans les mélanges de sels révèle les antagonismes ioniques.

On ne connaît toutefois pas la nature des phénomènes qui interviennent dans l'antagonisme réciproque des ions ; de même on ignore les causes exactes du ralentissement de l'effet des ions OH^- (ou H^+) par les cations. Il s'agit sans doute d'actions électrostatiques lorsque les particules des protéines sont chargées électriquement. (D. Jordan Lloyd et W. Pleass, 1927).

4. *Action de solutions oxydantes.*

En passant dans l'eau de mer, dans les conditions naturelles, les spermatophores

subissent des actions oxydantes avant de s'ouvrir (1). Il nous a paru intéressant de connaître leur effet en essayant de soumettre les appareils spermatiques à des milieux susceptibles de les oxyder fortement. A cette fin, les spermatophores ont été placés dans des solutions de permanganate de potasse et d'hypochlorite de soude, faites soit dans l'eau distillée, soit dans l'eau de mer. Le permanganate a été utilisé au 1/10.000e et l'hypochlorite à environ 1/350e (3 gouttes dans 50 cc. d'eau).

Solutions dans l'eau distillée.

Permanganate de potasse. — On observe, ici encore, un comportement qui varie suivant l'individu dont proviennent les spermatophores mis en expérience. Ceux de certains mâles ne s'ouvrent pas, tandis que les appareils d'un autre éclatent presque tous en 18 minutes, d'abord en masses très dissociées, puis en paquets. Tout le spermatophore est fortement gonflé (comparer les figs. 9 et 10) ; l'embase, surtout, a beaucoup augmenté de volume. Le contenu spermatique n'est pas coagulé au début de l'expérience ; la floculation ne se fait qu'au bout de plusieurs minutes de contact. Les différentes parties du spermatophore réduisent le permanganate qui les pénètre.

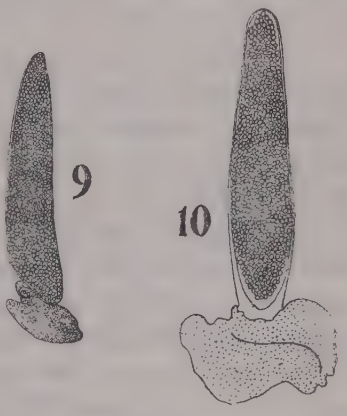


Fig. 9. Spermatophore dans le canal déférent. G. = 90.

Fig. 10. Spermatophore dans MnO_4K en solution à 1/10.000 dans l'eau distillée. G = 90.

Hypochlorite de soude. — Il se produit, après le gonflement accentué de l'appareil, des éclatements, en nombre variant de quelques unités à la presque totalité des ampoules. Les masses spermatiques sont expulsées en forme de gros boudins un peu dissociés. Les embases et le mucus autour des spermatophores sont coagulés et opaques.

Solutions dans l'eau de mer.

Permanganate de potasse. — Les sels de l'eau de mer empêchent toute déhiscence de se produire. Le gonflement des spermatophores est moindre ; les coagulations sont plus fortes, en particulier en ce qui concerne l'embase et le mucus externe.

Hypochlorite de sodium. — Le gonflement des contenus spermatiques est moins

(1) La mesure du potentiel d'oxydoréduction du milieu intérieur du canal déférent n'a pas pu être effectuée par manque de l'appareillage nécessaire. Toutefois, le mucus autour des appareils ne semble pas être réducteur. Il ne donne pas, notamment, la réaction au nitroprussiate, indiquant la présence de glutathion réduit, que l'on trouve dans les cellules de la paroi du canal.

grand que dans la solution dans l'eau distillée mais la coque se dilate d'autant. Il y a parfois quelques éclatements par la pointe, comme ceux qui se produisent, à l'occasion, dans l'eau de mer seule.

Action consécutive de la soude centinormale. — Le permanganate et l'hypochlorite ralentissent tous deux l'action de la soude que l'on fait agir ensuite sur les spermatophores.

Après MnO^4K dans l'eau de mer, il ne se produit aucune déhiscence ; le blocage est total, malgré le gonflement de l'appareil.

Après l'eau de Javel dans l'eau distillée pendant 1/4 d'heure, la soude provoque des éclatements longs, en boudins, de 80 % des ampoules, environ.

L'hypochlorite dans l'eau de mer retarde aussi les éclatements dans NaOH, mais moins. Après 1/4 d'heure d'action presque tous les spermatophores s'ouvrent en 20 minutes et leur contenu est projeté, dissocié au début, puis en paquet gonflé. Après 1 heure de séjour, les déhiscences sont moins nombreuses et n'atteignent que 60 à 75 % des réservoirs.

En comparant les résultats ci-dessus, il ressort que les sels de l'eau de mer et MnO^4K ont une action convergente, freinant fortement celle des ions OH^-. Il en va autrement de l'action de ClONa, qui, en solution dans l'eau distillée, retarde davantage les déhiscences par la soude que lorsqu'il est en solution dans l'eau de mer. Cela provient de ce que l'eau de mer empêche le colloïde interspermatique d'être coagulé aussi vite par l'hypochlorite, soit par la présence de ses sels, soit par suite de sa pression osmotique plus forte. La coagulation intervient ensuite, et, après 1 heure de séjour, la soude mise alors produit à peu près le même pourcentage d'ouvertures qu'après la solution de ClONa dans l'eau pure.

5. *Rôle de substances réductrices.*

Nous avons utilisé l'acide sulfhydrique en dissolution dans l'eau, et le sulfhydrate d'ammonium, également en solution étendue et à l'état de vapeurs sulfurées émises par la solution pure.

Actions de l'acide sulfhydrique et du sulfhydrate d'ammonium en solutions.

L'acide sulfhydrique n'a été appliqué sur les spermatophores qu'en solution forte dans l'eau distillée. Comme il ne s'y produit pas d'éclatement, nous n'avons pas fait de solution de ce gaz dans l'eau de mer.

Le sulfhydrate d'ammonium a été employé en solution diluée dans l'eau distillée et dans l'eau de mer, à raison de 1, 2 ou 4 gouttes de liqueur concentrée dans 10 cc. d'eau.

Dans le premier liquide, les éclatements se produisent rapidement par la pointe,

et sont terminés en 1 à 5 minutes. Les spermatozoïdes se dispersent après leur expulsion. La coque est gonflée.

Dans l'eau de mer il peut y avoir des éclatements ou non, suivant les individus qui ont fourni les appareils. Quand ils se produisent, ils ont lieu par la pointe, ou par un petit orifice subterminal sur la suture, ouverture qui s'élargit ensuite. La sortie des spermatozoïdes se fait en fusée, et ils se dispersent dans le liquide. La vitesse de déhiscence varie avec la concentration : avec 2 gouttes tout a éclaté en 7-9 minutes ; avec 4 gouttes, il ne faut plus que 2'30'' pour que les ouvertures soient terminées. La coque gonfle plus que le contenu qui devient opaque.

Action des vapeurs de sulfhydrate d'ammonium.

Seules ont été utilisées les vapeurs dégagées par une solution de $(NH^4)^2S$ sur les spermatophores de ce Pagure ; celles de l'acide sulfhydrique n'ont pas été employées.

Pour obtenir leur action, il a été procédé de la façon suivante : les appareils spermatiques ont été placés sur lame porte-objet, dans une grosse goutte, soit d'eau distillée, d'eau de mer ou d'une solution isotonique de l'un de nos chlorures ; la lame était ensuite recouverte d'une cloche contenant, appliqué au fond, un tampon d'ouate imbibé de la solution concentrée de sulfhydrate d'ammonium. La distance entre les spermatophores et l'ouate se trouvait ainsi de 7mm à 15 mm, selon la cloche utilisée.

Placés dans l'eau distillée, les spermatophores s'ouvrent plus ou moins rapidement, suivant le mâle dont ils proviennent (1 minute, 1'30'', 8').

Dans l'eau de mer, les réservoirs ont toujours éclaté lorsqu'ils ont été soumis à l'action des vapeurs de $(NH^4)^2S$. La durée des déhiscences est parfois plus longue que dans l'eau distillée, d'autres fois non. Elle est de l'ordre de 2 à 11 minutes, suivant les cas. L'ouverture est apicale, petite, puis souvent élargie, ou placée sur un renflement subterminal de la ligne de suture. (fig. 11,) ; elle se fait apparemment par dissolution du ciment unissant les valves de la coque ; le vidage de l'ampoule se fait en fusant, ou par simple écoulement du contenu, et n'est généralement pas complet. Lorsque la pression interne a diminué les spermatozoïdes ne sortent plus. Les spermies se dispersent dans l'eau de mer, sans que le colloïde autour d'eux se soit d'abord floculé ; il sort parfois un peu coagulé vers la fin.

Fig. 11. Eclatement latéral et éclatement par la pointe de spermatophores placés dans l'eau de mer et soumis à l'action des vapeurs de sulfhydrate d'ammonium. G = 90.

Les coques subissent une modification spéciale : elles gonflent beaucoup, s'allongent surtout, et deviennent molles et déformables ; on les voit se friper après avoir été distendues.

En plaçant les spermatophores dans des solutions des 4 chlorures isotoniques avec l'eau de mer, et en appliquant les vapeurs de $(NH^4)^2S$ sur les gouttes qui les contiennent, les éclatements se font comme si les appareils étaient baignés par de l'eau de mer. Il n'y a pas de différence nette d'un chlorure à l'autre, dans la durée des déhiscences (elle s'échelonne de 3 à 20 minutes, selon les individus et les lots prélevés dans un même canal déférent). Les masses spermatiques expulsées sont un peu coagulées ; au bout de quelque temps de séjour dans la solution, elles le deviennent complètement ; les coques ne sont pas entièrement vidées. L'ouverture est terminale ou latérale, comme dans l'eau de mer.

Il est à remarquer que les sels de l'eau de mer ou des solutions chlorurées ne s'opposent pas à l'action d'H^2S ou de $(NH^4)^2S$. Le même fait se retrouvera plus loin, dans l'action de CNK sur les spermatophores de *P. arrosor*. Cela provient peut-être de ce que ces corps n'agissent pas sur les mêmes groupements amino-acides des molécules protidiques du spermatophore.

Actions successives des vapeurs d'H^2S et d'ammoniaque.

Etant donné que l'acide sulfhydrique seul ne provoque pas d'ouverture des spermatophores, alors qu'il y en a à peu près toujours avec $(NH^4)^2S$, nous avons appliqué successivement l'ammoniaque gazeux et H^2S.

Si on emploie simultanément les vapeurs d'H^2S et de NH^4OH sur les réservoirs placés dans l'eau de mer, on n'obtient rien, parce que les sels alcalino-terreux sont précipités dans l'eau de mer et forment une pellicule à la surface de la goutte, empêchant toute action ultérieure. Nous avons donc employé le gaz ammoniac sur les spermatophores qui n'éclataient pas dans la solution d'H^2S dans l'eau pure. Si celle-ci a agi longuement au préalable (3 heures) il n'y a pas d'éclatements, par suite des coagulations irréversibles des substances du spermatophore. Mais si l'on fait agir l'ammoniaque sur les appareils venant d'être immergés dans la solution sulfhydrique, les éclatements sont rapides (3 minutes pour les spermatophores flottant sur la goutte, 13 minutes pour ceux qui collent à la lame).

En mettant des ampoules dans des solutions de NaCl et de KCl isotoniques avec l'eau de mer, et en les soumettant au dégagement de gaz ammoniac, qui ne produit rien sur eux, on obtient tous les éclatements en 14 minutes par l'action des vapeurs d'H^2S appliquées seules ensuite.

Il ressort de ces différentes expériences que c'est la combinaison des actions des gaz ammoniac et sulfhydrique qui est surtout active à l'égard des spermatophores d'*E. prideauxi*. (Nous verrons que chez *P. arrosor* on peut obtenir des ouvertures par l'action de l'acide sulfhydrique seul).

La coque de l'appareil est la partie la plus sensible aux effets d'H^2S et de $(NH^4)^2S$; elle est toujours fortement distendue, ramollie et déformée, alors même que ses valves ne se séparent pas. La suture subit naturellement les mêmes allongements.

On peut expliquer cette action par le fait que la coque possède dans sa molécule, comme nous l'avons vu plus haut, des composés oxydés du soufre, susceptibles d'être transformés en groupements sulfhydrilés par l'action de réducteurs. Les groupements de la cystine et de la cystéine sont, en effet, très sensibles au potentiel d'oxydoréduction (Jordan-Lloyd, 1938). Les recherches effectuées sur les kératines par Speakman (1933), Goddard et Michælis (1934), Astbury et ses collaborateurs (1931-1936) montrent qu'elles sont dissoutes par des réducteurs tels que les sulfures alcalins, KCN, l'acide thioglycolique, etc. dans des milieux dont l'alcalinité varie de pH 10 à pH 13. Cette dissolution de la kératine, par ailleurs inattaquable par les agents usuels, se fait par la rupture des liaisons disulfures de ses chaînes latérales qui conditionnent partiellement sa stabilité. La réduction s'opère avec perte de soufre dans le cas où Na^2S ou KCN sont utilisés, mais l'acide thioglycolique le réduit complètement. Comme dans le cas des spermatophores, l'action des solutions réductrices sur la kératine s'accompagne d'un phénomène de gonflement considérable, dont l'ampleur est proportionnelle à la concentration de la solution et à la durée de son intervention.

Le comportement des coques des spermatophores dans les agents réducteurs apparente donc leur constitution de celle des kératines, malgré qu'elles soient solubles dans les milieux qui n'attaquent pas ces dernières (alcalis, acides, ferments digestifs).

Le mode des déhiscences produites indique bien qu'il s'agit de la prépondérance de l'action lytique sur la région apicale, sensible, de la suture et non d'un accroissement de pression interne provoquant l'écartement des valves. L'augmentation de la pression interne a bien lieu, et le contenu ampullaire gonfle quoique moins que dans la soude centinormale, mais cette pression sert partiellement à distendre la coque ramollie. L'expulsion incomplète des masses spermatiques au dehors de l'ampoule montre que la pression restante à l'intérieur est faible.

6. *Action des ferments digestifs.*

Nous avons recherché l'action des ferments protéolytiques divers sur les spermatophores d'*E. prideauxi*, sachant que chez certaines espèces animales ce sont des interventions de cet ordre qui assurent la libération des éléments mâles. C'est le cas, par exemple, chez les Ixodidés et des Gastéropodes Pulmonés qui possèdent de tels appareils. Il est probable que des diastases agissent toujours quand les spermatophores sont introduits dans les voies génitales de la femelle, et non simplement déposés auprès des orifices de ponte.

D'un autre côté, nous avons vu que certaines enzymes produisaient la lyse com-

plète des appareils, après une longue action. On pouvait penser que le ciment de la suture subit rapidement une protéolyse amenant l'ouverture des ampoules. C'est ce que nous avons pu observer dans de nombreux cas : l'action enzymatique est celle qui nous a apporté les faits les plus instructifs à l'égard de la déhiscence des spermatophores dans les conditions naturelles.

Nous avons utilisé pour cette recherche, d'une part des diastases d'Invertébrés, extraites par macération d'organes digestifs frais, dans l'eau distillée ou l'eau de mer, d'autre part, des ferments protéolytiques du commerce, provenant de Vertébrés, telles que la pepsine, la trypsine.

Diastases d'Invertébrés.

Pour obtenir les ferments digestifs des Invertébrés, leurs organes ont été mis dans une salière, à macérer dans très peu d'eau : par exemple, 1 ou 2 estomacs de Pagures, ou l'hépatopancréas d'un seul individu, étaient coupés en menus morceaux dans 2cc. d'eau environ, et laissés à tremper pendant une heure et demie à deux heures avant de servir. Les organes utilisés provenaient soit de l'espèce, soit d'un genre voisin, *Pagurus arrosor*, soit d'une espèce d'un groupe différent, l'Escargot gris, *Helix aspersa* (1).

Action des diastases stomacales. — Les solutions de sucs digestifs stomacaux dans l'eau distillée ou dans l'eau de mer restent généralement inefficaces sur la déhiscence des spermatophores d'*E. prideauxi*. Ceci est vrai pour les organes provenant soit de l'espèce, soit de *P. arrosor* ou d'*Helix aspersa*. Chez certains individus, des macérations à pH 7 - 7,2 dans l'eau distillée et l'eau de mer provoquent un certain pourcentage d'éclatements : 6 °/₀, 27 °/₀ ou 35 °/₀. L'alcalinisation ou l'acidification du milieu qui est généralement nécessaire pour activer de telles diastases n'a pas davantage favorisé les éclatements. On peut en conclure que le ciment de la suture est réfractaire aux diastases stomacales de Pagurides.

Action des diastases hépatopancréatiques. — Celles-ci ont un effet différent, en ce qui concerne l'hépatopancréas de l'espèce. La macération faite dans l'eau de mer, ayant un pH = 5,9 provoque l'éclatement par une ouverture apicale de l'ampoule et la sortie du contenu en fusée, sans que, toutefois, le vidage soit complet. Les spermatozoïdes expulsés se séparent les uns des autres dans le liquide (fig. 12. — Pl. I, fig. 8). La durée des éclatements s'échelonne de 5 minutes à 1 heure, suivant les exemplaires. Parfois tout n'éclate pas en 1 heure (30 °/₀ résistant à pH 6,5). L'orifice qui se produit à l'extrémité de l'ampoule est dû à la lyse par l'enzyme du ciment de la suture. Le gonflement de l'appareil dans la solution est de l'ordre de celui qu'on obtient dans l'eau de mer seule ; il demeure insuffisant pour avoir un rôle dans l'ouverture.

---

(1) Nous avons choisi ce Mollusque car, selon KARRER et collab. (1929), l'escargot possède une chitinase susceptible de dissoudre de la chitine pulvérisée.

Les macérations d'hépatopancréas de *P. arrosor*, à pH 6,1, dans l'eau de mer, ne produisent, sur les appareils d'un *Eupagurus* sensible à l'action de sa propre diastase, que quelques rares éclatements. En solution dans l'eau distillée, à pH 6,6, le résultat est semblable.

Dans tous les liquides de macération les embases sont coagulées mais ne collent pas aux surfaces qui entrent en contact avec elles.

Action consécutive de la soude. — Les ferments digestifs de l'estomac ralentissent l'action de la soude centinormale, que l'on fait intervenir ensuite, sur les déhiscences. Celles-ci ont lieu en 10 à 30 minutes.

Au contraire, la diastase hépatopancréatique de *P. arrosor* qui, seule, ne produisait pas un effet suffisant pour faire s'ouvrir les réservoirs, favorise, ou tout au moins ne retarde pas, les déhiscences dans la soude qu'on fait intervenir après : elles sont terminées en 5 minutes.

F. 12. Spermatophore dans le liquide de macération de l'hépatopancréas dans l'eau de mer. G. = 90.

Diastases du commerce.

Il a été fait usage de solutions de pepsine, de trypsine, de peptone pepsique dans l'eau de mer ou dans l'eau distillée à différents pH. Les liqueurs contenaient environ 0 gr. 5 % de poudre de ferment, sans addition de sels. Le pH était ajusté, selon les cas, par l'emploi de soude, CO^3NaH ou d'HCl. Nous avons utilisé, dans les mêmes conditions (à froid et dans le temps limité d'1 heure) l'action des mélanges selon De Waele (1933) (v. p. 10). L'efficacité des ferments était contrôlée par la digestion d'albumine coagulée.

Les résultats obtenus dans les différentes solutions sont très variables selon les mâles qui ont fourni les spermatophores. Tantôt elles font ouvrir tous les appareils, tantôt aucun n'éclate ; tous les pourcentages intermédiaires d'ampoules réfractaires peuvent se trouver. Nous avons séparé les actions des ferments dissous dans l'eau distillée de celles de ferments dissous dans l'eau de mer, dans lesquels les cations entrent en jeu, car elles diffèrent un peu.

Solutions de ferments protéolytiques dans l'eau distillée. — Dans la pepsine, en milieu acide (pH 4,5 ou 1,5) les réservoirs spermatiques d'*E. prideauxi* ne s'ouvrent pas. En neutralisant la liqueur, quelques éclatements se produisent parfois. L'ampoule est gonflée (ses dimensions passent de 320 μ de longueur à 400 μ et de 65 μ de largeur à 72 μ environ). Les embases sont coagulées et ne collent pas.

Dans la trypsine, en milieu légèrement alcalin, à pH 7,3 auquel cette diastase a son maximum d'efficacité, généralement, il y a 25 % environ de déhiscences ; le

contenu sort en paquets dont les éléments spermatiques se séparent. En employant le mélange trypsique de De Waele dans l'eau physiologique à pH 7,5 tous les appareils s'ouvrent en 1 heure, par la pointe, le contenu expulsé en fusée est dispersé.

Le mélange trypsine-bile, en solution physiologique, est inactif, que ce soit à pH 5,5 ou à pH 7,5.

La peptone pepsique, à pH 5,4 fournit au maximum 10 % d'éclatements. Les contenus sortent coagulés et opaques. A pH 8, les résultats sont variables : parfois tous les appareils s'ouvrent en 5 minutes, d'autres fois, 10 % seulement, en 1 heure de temps. A ce pH l'intervention des ions OH^- peut-être suffisante pour produire ces ouvertures. Le mucus autour des spermatophores est coagulé et les embases adhèrent aux surfaces.

Solutions enzymatiques dans l'eau de mer. — La pepsine, en solution dans l'eau de mer à pH 3,3 ne provoque pas d'éclatement en général, sauf exceptions.

La trypsine, à pH 8, ne produit pas d'éclatement, sauf quelques ampoules qui ne résistent pas chez certains Pagures. Le colloïde autour des spermies n'est pas coagulé et ces éléments se dispersent si l'on ouvre les réservoirs.

La peptone pepsique produit parfois, aux pH 6,2, 6,6, 7,1, de rares éclatements en fusée ; les spermies se dispersent dans la solution ; les embases sont adhérentes aux surfaces.

Nous avons aussi utilisé, en solution dans l'eau de mer un mélange de sels biliaires. Employé seul, à pH 6.5, 7,5 ou 9, il empêche tout éclatement de se produire et coagule en 10 minutes environ le contenu spermatique. En faisant précéder l'action de ces sels par un passage dans la trypsine ou la pepsine, on obtient le même résultat négatif.

Effet des diastases du commerce sur l'action de la soude centinormale. — L'action des ferments protéolytiques retarde, en général, les éclatements dans la soude. Mais, ici encore, le ralentissement est très variable. Après la pepsine et la trypsine, tout peut éclater en une dizaine de minutes ou résister plus d'1 heure. Après la peptone pepsique dissoute dans l'eau de mer, les déhiscences dans la soude peuvent ne pas être retardées (elles ont alors lieu en 2'30") ou être ralenties et se produire en 40'. Les contenus sont expulsés d'abord un peu dissociés puis en boudins.

Il résulte de ce qui précède : 1° que l'état où se trouvent les spermatophores est un facteur dominant du comportement de ces productions en présence des ferments digestifs, ce qui rend compte des résultats très variables que l'on observe :

2° que la présence de l'eau de mer dans les solutions n'a pas une action de blocage très nette. Elle ralentit l'action de la trypsine, mais favorise celle de la pepsine. Elle n'a pas d'influence sur les diastases d'Invertébrés ;

3° qu'indépendamment de la maturité des ampoules, de la présence d'un excès d'ions OH^- et des sels marins dans la solution, les diastases peuvent produire la lyse

de la suture. Ceci est vrai pour la diastase hépatopancréatique de l'espèce et pour le mélange trypsique d'après De Waele. Dans les autres cas, aucune régularité dans les résultats n'est observée.

7. *Action des produits de macération des organes génitaux femelles dans l'eau de mer.*

Les essais faits avec des macérations d'œufs mûrs, d'ovaires à maturité ou non et d'oviductes, n'ont pas réussi à déterminer l'ouverture des réservoirs spermatiques de ce Pagure.

Les macérations employées étaient faites dans l'eau de mer, avec les organes provenant de l'espèce ou d'un autre Paguride : *Pagurus callidus* ; elles sont restées complètement inefficaces dans tous les cas. Il est possible que l'état convenable de maturation des organes génitaux femelles n'ait pas été atteint lorsque nous les avons utilisés, ou que les spermatophores n'aient pas été assez mûrs, eux non plus.

2) Les mécanismes de la dehiscence expérimentale du spermatophore

1. *Généralités.*

L'examen morphologique du spermatophore nous a montré que cet appareil présentait une zone de déhiscence prédéterminée : la ligne de suture unissant les deux valves de la coque. Nous avons vu que, le long de cette ligne, les deux moitiés de l'enveloppe étaient collées l'une à l'autre par un ciment spécial. L'ouverture des spermatophores est basée avant tout sur la liquéfaction de ce ciment.

L'expérience prouve que tous les points de la suture ne sont pas également sensibles aux facteurs de déhiscence. La région apicale où se trouve le bourrelet saillant est la région de moindre résistance qui cèdera la première à l'action des agents lytiques (Pl. I, fig. 7). C'est en un point de cette extrémité de l'appareil que se fait, sauf quelques rares exceptions, la fente par laquelle s'échappent les gamètes.

D'un autre côté, nous savons (p. 3) qu'il existe une pression à l'intérieur du réservoir.

Quels sont les phénomènes qui président à la séparation des valves de la coque ?

On peut relever deux mécanismes fondamentaux :

Dissolution du ciment de la suture.

Accroissement de pression à l'intérieur de l'ampoule.

2. *Ouverture par dissolution du ciment de la suture.*

Elle s'observe dans les milieux où le spermatophore conserve à peu près sa pression interne initiale. C'est le cas, par exemple lorsqu'on le soumet à l'action d'une solution active d'enzyme dans l'eau de mer. Le ciment de la suture, à l'extrémité du spermatophore, se dissout et il se forme un orifice minuscule. Les spermatozoïdes

sortent un à un, puis plus nombreux, poussés au dehors par la pression intérieure du réservoir. (fig. 12). D'abord très petite, l'ouverture s'agrandit peu à peu et le débit du sperme augmente. Le colloïde qui entoure les spermies est dissous. Celles-ci sont libérées et s'éparpillent dans le liquide ambiant. Les valves finissent par s'écarter sur une longueur correspondant, à peu près, au bourrelet sutural (un peu plus du 1/5 de la hauteur totale de l'ampoule) (fig. 13.). Dans la région inférieure de la coque, les valves restent soudées.

F. 13. Ecartement des valves de la coque au sommet de la suture. G = 90.

La déhiscence obtenue dans ce cas est due uniquement à l'action du ferment digestif sur la substance du ciment, à partir du point où elle est le plus vulnérable.

Nous retrouvons une ouverture du même type, décrite par Bloch pour les appareils d'*E. bernhardus*. L'aspect des spermatophores trouvés vides sur des femelles d'*E. prideauxi* suggère que leur déhiscence s'est faite par un procédé de cette nature.

3. *Ouverture due à l'accroissement de la pression à l'intérieur de l'ampoule.*

Lorsqu'il y a imbibition à travers la coque fonctionnant comme membrane perméable, il y a un accroissement du volume de l'appareil. Le colloïde interne et les spermies se gonflent simultanément ; ces dernières augmentent de taille en se dévaginant selon le processus décrit par Susaeta (1926) et F. Bloch (1936). La coque élastique se dilate en même temps, sous l'effet de la pression interne qui résulte de ce gonflement, jusqu'à atteindre une valeur maximum pour un milieu donné. La pression d'expansion s'exerce dans tous les sens, mais elle est plus grande sur les parois de la région la plus large de l'ampoule qu'à l'extrémité apicale de celle-ci.

Il y a ouverture de la coque, lorsque la pression ainsi développée dépasse la limite de l'élasticité de l'ampoule, d'une part, et la résistance de la suture, d'autre part. Le point où se fait la déhiscence est celui où la solidité de la suture est la plus faible, la pression interne maximale. Pour les appareils d'*E. prideauxi*, ce point est à la base du bourrelet sutural, du côté où se trouve le réservoir accessoire. C'est l'emplacement privilégié décrit par Mouchet. Quand ces conditions sont réunies, il se fait un décollement des deux valves sur le côté de la suture. Le contenu spermatique est expulsé avec une force proportionnelle à la pression interne accrue. L'ouverture est un éclatement brutal, et le contenu se trouve projeté extérieurement en un nuage dont les éléments spermatiques se dispersent dans le liquide environnant, ou en une masse unique, coagulée et gonflée qui garde la forme de son contenant.

La longueur de la fente produite est variable : elle s'étend plus ou moins loin de chaque côté de son point de départ et peut même intéresser tout le réservoir ; en général, elle ne dépasse pas la région moyenne de l'appareil.

4. *Ouverture par action combinée des deux facteurs précédents.*

Le gonflement des spermies et du colloïde qui les sépare est cependant insuffisant pour déterminer la production de cette fente latérale. Agissant seule, l'augmentation de la pression interne ne provoque pas le décollement des valves comme on peut le voir par l'action des réactifs qui produisent des gonflements aussi grands que ceux qui sont suivis de déhiscence, sans, toutefois, amener d'éclatement. C'est le cas, par exemple, de l'acide carbonique. Il est donc nécessaire qu'une action lytique s'amorce pour venir affaiblir la résistance de la suture et permettre à la pression interne de s'exercer efficacement. Ceci ne s'obtient que dans certains milieux physico-chimiques, dont, notamment, les alcalis. Nous avons vu, en étudiant les constituants du spermatophore, que la soude à 15 % les hydrolyse à froid ; le mucus qui entoure les appareils dans le conduit déférent est dissous à une concentration décinormale environ. Le ciment de la suture, beaucoup moins résistant que le coque, commence à être attaqué par une solution même très faiblement alcaline. La pression développée à l'intérieur de l'ampoule fait le reste.

3) La déhiscence naturelle des spermatophores.

Comme l'ouverture des spermatophores déposés sur le corps de la femelle n'a pas été observée jusqu'à présent, les facteurs précis qui interviennent pour libérer les spermatozoïdes n'ont pu être déterminés.

Il nous a été possible d'assister à des déhiscences qui peuvent, dans une certaine mesure, être considérées comme « naturelles ». Il s'agit de cas où chez *E. prideauxi*, ainsi que chez d'autres espèces, beaucoup de spermatophores se vident spontanément dans le canal déférent, prélevé après la mort de l'animal. Les individus qui présentent cette anomalie sont très rares chez ce Pagure (2 ou 3 parmi les nombreux exemplaires examinés en Juin-Juillet au Laboratoire Arago en 1935-36-37). Normalement, en effet, ces productions restent closes dans les conduits génitaux mâles examinés dans les mêmes conditions. Dans les cas ci-dessus, la déhiscence, qui a lieu par un petit orifice apical, se produit en dehors de toute intervention apparente d'un agent externe. Il semble que le spermatophore ait atteint un certain degré de « maturité » qui permette la liquéfaction du ciment de sa suture. Les modifications déterminées par la mort, dans le milieu intérieur du canal déférent, qui restent habituellement inefficaces, seraient, dans ce cas, les facteurs adjuvants de la déhiscence des ampoules « mûres ». Or, chez ces individus privilégiés, une grande partie des appareils ne s'ouvre pas dans ces mêmes conditions. Si on les transporte dans de l'eau de mer, les déhiscences d'un certain nombre d'entre eux s'effectuent, dès leur immersion, et toujours par la pointe de l'ampoule. Le ciment de la suture a donc diminué de résistance par suite d'un phénomène, de nature inconnue, que nous désignerons par le terme vague de « maturation ». La transformation qui s'opère à la suture du sperma-

tophore a-t-elle pris naissance à l'intérieur du réservoir même ? Ou est-elle déterminée par un facteur apparaissant dans le canal déférent ? La seconde alternative semble la plus probable.

Le fait important à souligner est que, sous l'effet de certaines conditions internes, quelques spermatophores deviennent capables de s'ouvrir au contact de l'eau de mer, à leur sortie du canal déférent.

Ces faits ne s'opposent pas à l'intervention d'une substance spéciale sécrétée par la femelle mûre, et provoquant l'ouverture d'un plus grand nombre d'ampoules lors de l'émission des ovules. Nous ne sommes pas en mesure de confirmer ni d'infirmer cette éventualité. Les expériences que nous avons tentées avec des macérations d'ovaires mûrs et d'oviductes ne nous ont pas donné de résultats plus concluants à cet égard, que n'en ont fourni les mêmes tentatives faites par nos prédécesseurs.

Déterminisme de l'expulsion et du transport des spermatophores.

F. Bloch a précisé, chez *D. pugilator* et chez *E. bernhardus*, que la ponte des femelles habitant la Manche était cyclique et n'occupait qu'une période de l'année, variable selon l'espèce. Chez la première, l'émission des ovules a lieu quatre fois pendant la durée de l'activité génitale, qui s'étend de Juin à Septembre. L'ovaire, très réduit, reste ensuite au repos jusqu'au printemps suivant.

Dans la période de maturité sexuelle, les intervalles entre chaque ponte sont occupés par le développement des œufs attachés aux pléopodes de la mère jusqu'à leur éclosion. Pendant ce temps, une nouvelle poussée d'ovocytes se développe dans la glande. Les ovules mûrs ne seront pondus qu'après la mue et l'accouplement. L'auteur a bien montré la dépendance de ces phénomènes entre eux : la ponte est déterminée par la mue, elle-même provoquée à la fois par la maturité des ovules et par le rapprochement avec le mâle.

Le cycle de la glande mâle est différent et son activité s'étend de Février à Septembre, d'après F .Bloch, pour *D. pugilator*. Les canaux déférents contiennent des spermatophores toute l'année, mais en nombre très diminué pendant le repos génital.

D'une façon générale, les cycles sexuels saisonniers des Invertébrés marins sont beaucoup moins tranchés dans la Méditerrannée que dans la Manche. Nous n'avons pas cherché à déterminer les périodes de développement et de régression du testicule d'*E. prideauxi*, n'ayant pas eu l'occasion d'examiner des glandes à toutes les époques de l'année. Dans la Méditerranée, en décembre, elles sont encore assez volumineuses. Les conduits génitaux pleins d'appareils spermatiques s'observent de la mi-mars à la fin de Juillet, en automne et au début de l'hiver. Nous n'avons pas examiné d'exemplaires en août et septembre, ni en plein hiver. Cette accumulation de réservoirs spermatiques fait que leur émission n'est pas aussi étroitement conditionnée que celle des produits femelles ; aussi les mâles s'accouplent-ils plus fréquemment que ne pondent les femelles. De même, ils peuvent sous l'effet d'une excitation mécanique

déterminant des contractions abdominales, expulser leurs produits (c'est le cas, lorsqu'on retire les Pagures de leur coquille, par exemple.)

Dans les conditions naturelles, les spermatophores sont fréquemment émis indépendamment de la présence d'une femelle mûre ; on trouve en effet, des appareils spermatiques qui ont été déposés sur des individus immatures du sexe opposé. Nous l'avons souvent constaté et S. MOUCHET et F. BLOCH le signalent également chez *E. prideauxi* et *D. pugilator*. Nos observations ont porté d'une part sur des animaux peu nombreux, pêchés de la veille, et, d'autre part, sur un grand nombre d'individus conservés de 2 à 6 semaines en juin-juillet, dans des bacs de l'aquarium du Laboratoire ARAGO. Les 20 et 22 juillet 1937, 25 femelles, sur 40 examinées, avaient des spermatophores fixés à la face ventrale (abdomen, soies thoraciques, coxa des 3e pattes). Aucune de ces femelles n'avait mué et ne portait de ponte récemment fécondée. En revanche, la plupart portaient des œufs au développement assez avancé, accrochés à leurs pléopodes. Les rapprochements sexuels pouvaient être dus, ici, au confinement, dans un bac ; mais ce n'était pas le cas pour les quelques individus fraîchement pêchés. Le dépôt des réservoirs spermatiques a dû être exécuté rapidement, sans être précédé par les manifestations préparatoires à la mue. En effet, nous n'avons pas observé d'individus réunis dans la position d'attente décrite par F. BLOCH. Il semble que l'expulsion des spermatophores soit la conséquence de réflexes à point de départ précis.

Le plus souvent, les spermatophores que l'on trouve déposés sur les femelles immatures demeurent intacts, comme l'ont observé les auteurs précédents. Cependant, nous avons pu examiner plusieurs femelles portant des ampoules ouvertes au sommet et vides, mêlées à des appareils plus nombreux, encore entiers. Ces ouvertures n'avaient pu être déterminées par la ponte, puisque celle-ci n'avait pas eu lieu. Il est peu probable qu'une sécrétion émise par la femelle non mûre les ait fait ouvrir, car il n'y aurait pas de raison pour que les spermatophores ne s'ouvrent pas invariablement sur tous les individus immatures, qui les portent. Nous pensons plutôt que les déhiscences se sont faites au contact de l'eau de mer, lors de l'expulsion des appareils particulièrement mûrs (voir p. 57). On pourrait aussi avancer que ces spermatophores se sont vidés lors du dernier accouplement suivi de fécondation ; cela ne nous paraît pourtant pas vraisemblable, pour deux raisons, dont la première est que les spermies sont encore vivantes dans les ampoules pleines, manifestement déposées en même temps ; l'autre est que beaucoup de femelles pourvues de pontes en évolution n'ont, toutefois, pas gardé d'appareils collés sur elles.

Nous avons vérifié que, dans l'eau de mer faiblement courante (condition qui doit se réaliser sous la face ventrale de la femelle), la survie des spermatozoïdes dans leur enveloppe n'excède guère quatre jours. Au bout de ce temps le sperme s'autolyse et le contenu spermatique des ampoules est transformé en une masse coagulée indissociable.

Il n'est pas rare non plus de trouver des spermatophores autour des orifices gé-

nitaux de l'*Eupagurus* mâle, collés aux soies des 4e et 5e paires de pattes, ou sur son abdomen. Nos prédécesseurs en ont aussi rencontrés. Ils ont été fixés là vraisemblablement lors d'un accouplement précédent, mais peut-être aussi ont-ils été émis spontanément sans rapprochement sexuel. Chez *E. prideauxi* nous n'avons pas vu d'ampoules vides ou ouvertes fixées sur le mâle ; mais chez *D. pugilator*, nous avons trouvé deux mâles porteurs d'appareils spermatiques presque tous ouverts. Dans ce cas, il faut éliminer l'intervention de toute sécrétion femelle.

Il se pourrait que la période d'attente au début de l'accouplement, décrit chez *Diogenes*, fut employée aussi bien au mûrissement des réservoirs spermatiques qu'à la préparation de la mue de la femelle. Quelles sont les modifications qui pourraient se produire dans la portion distale du canal déférent pour que l'attaque au sommet de la suture soit rendue possible ? Il semble qu'il puisse intervenir un agent lytique faible sur le ciment de la suture, le rendant plus ou moins soluble dans l'eau de mer. Il ne nous a pas été possible de montrer la réalité d'une telle intervention, ni son origine, si elle existe. On peut cependant penser qu'elle serait dûe à une sécrétion peut-être de type enzymatique fournie par les cellules de la paroi du canal déférent distal. Cette sécrétion serait déclenchée par des réflexes mécaniques ou mieux humoraux, consécutifs à la proximité de femelles mûres, lors de la pariade. Chez l'*E. prideauxi* mâle mûr, les ampoules étant très serrées dans le dernier segment du conduit génital, la substance émise n'atteindrait pas également tous les appareils, ce qui expliquerait le nombre d'entre eux réfractaires à l'influence de l'eau de mer, dans les rapprochements avec des femelles immatures. On sait que chez divers Invertébrés marins, (Annélides, Echinodermes, etc,) l'émission des produits génitaux mûrs d'un sexe est provoquée à distance, par la sécrétion de substances chimiques inconnues fournies par l'autre sexe.

Etant donnée la variabilité dans la résistance des ampoules, on peut penser aussi que ce sont des modifications au sein du ciment de la suture qui interviennent. Il y aurait une maturation spontanée du colloïde qui retient les deux valves accolées l'une à l'autre, transformation de nature autolytique, qui rendrait la substance plus vulnérable. Dans l'impossibilité où nous sommes de pouvoir trancher la question, voici ce qui nous paraît devoir être retenu actuellement sur les spermatophores d'*Eupagurus prideauxi* :

1° Ces appareils s'ouvrent, dans la déhiscence naturelle, par leur extrémité apicale : les deux valves s'écartent l'une de l'autre en laissant le passage aux spermies qui fusent par l'orifice, sous la poussée de la pression interne propre du contenu, légèrement accrue.

2° Les spermatophores de certains mâles se vident de la même façon, dans l'eau de mer, en sortant du canal déférent, sous l'effet apparent d'une maturation qui permet au ciment de céder à la pression interne.

3° L'émission des réservoirs spermatiques est indépendante, à la fois, de leur

état de maturité, et du rapprochement avec une femelle mûre. Elle a lieu, en effet, lors de contacts avec des individus immatures et les ampoules qui y sont fixées peuvent rester indéfiniment closes puisque la femelle qui les porte doit muer avant de s'accoupler utilement à nouveau. Elle paraît dûe à des réflexes très précis.

Chapitre III.

Le Spermatophore chez divers Pagurides.

Généralités.

Afin de nous rendre compte de l'importance et du degré de généralité des faits que nous avons observés, nous avons été amenée à étudier, d'une façon plus sommaire d'ailleurs, les productions spermatiques de quelques Pagurides autres que *E. prideauxi*. Nous avons appliqué à ces appareils les mêmes méthodes, les mêmes réactions et les mêmes techniques.

Les espèces que nous avons examinées sont les suivantes :

Eupagurus excavatus. Herbst ; *E. anachoretus*. Risso.
Diogenes pugilator. Roux.
Pagurus arrosor. Herbst ; *P. callidus*. Risso.
Clibanarius misanthropus. Risso.
Calcinus ornatus. Roux.
Paguristes oculatus. Fabr.

Les spermatophores d'*E. excavatus*, *E. anachoretus*, *P. arrosor*, *P. oculatus* ont été décrits par S. Mouchet (1931). Ceux de *D. pugilator*, *C. misanthropus* ont été étudiés pour la première fois par V. Popov (1924), puis par Mouchet. En 1886, Gilson a vu les spermatophores de P. *callidus* ; mais ils n'ont pas été décrits de nouveau.

Les descriptions et dessins fournis par ces auteurs sont bons ; mais nous devons insister qu'aucun d'eux *n'a vu que les spermatophores ont leur ampoule constituée par deux valves symétriques soudées par un ciment spécial, le long d'une suture méridienne plus ou moins facile à observer, mais constante.*

Dans une même espèce, la taille des spermatophores varie avec celle des individus. Nous donnons dans le tableau X les dimensions moyennes en μ des appareils spermatiques des formes que nous avons examinées. Il arrive parfois que des Pagures aient des spermatophores de deux tailles inégales, dans le même canal déférent. C'est ainsi que nous avons trouvé des ampoules mesurant 295 μ sur 115 μ dans la partie distale du canal de *P. arrosor*, et, plus en arrière, d'autres qui ne mesuraient que 200 μ sur 100. Le rapport entre la largeur et la longueur $\frac{l}{L}$ varie aussi suivant les individus. Chez cette espèce, il oscille entre 1/3 et 1/2.

a) *LE SPERMATOPHORE A L'ETAT STATIQUE.*

1) Morphologie générale.

Structure externe.

D'une façon générale on retrouve la structure que nous connaissons.

Fig. 14. Spermatophore d'*Eupagurus anachoretus*. *p.* : pied ; *ra* : réservoir accessoire. G = 120.

Chez *E. excavatus* les spermatophores sont à peu près identiques à ceux d'*E. prideauxi* ; mais chez *E. anachoretus*, le pied, qui, par définition, *a toujours la même composition chimique que la coque*, est devenu très long (fig. 14) (1) ; le réservoir est arrondi et les dimensions générales sont plus faibles, l'espèce étant plus petite.

Chez *D. pugilator*, entre l'ampoule et l'embase, s'intercale un long *pédicule* cylindrique, le plus souvent coloré en rose brique. Ce pédicule ne doit pas être considéré comme le pied très allongé et très aminci. Comme Mouchet l'a montré la première, *il est formé d'une substance spéciale* sans homologue chez les *Eupagurus* étudiés. L'ampoule est plate, presque circulaire. Les valves de la coque sont un peu épaissies sur les bords de la suture qui les réunit ; elles sont, de plus, reliées l'une à l'autre intérieurement par une duplicature médiane de la coque dont Mouchet a expliqué la formation. (Pl. I, fig. 9, 10).

Chez les *Pagurus*, *Clibanarius*, *Calcinus*, et *Paguristes*, la structure des appareils se complique par l'adjonction d'une formation nouvelle qui a reçu le nom de *voile*. Elle est constituée par une ou plusieurs membranes.

Chez *Pagurus*, les spermatophores sont constitués comme ceux de *Diogenes* d'une ampoule réunie à l'embase par un pédicule, ici blanc. Mais ils en diffèrent par

(1) La forme des spermatophores de cette espèce est variable : nous en avons trouvés certains comme celui figuré par Mouchet (1931), d'autres comme notre figure, et un troisième type presque analogue à l'appareil d'*E. prideauxi*.

TABLEAU X.

Mesures en μ des spermatophores de divers Pagurides.

Espèces	Ampoules			Pédicules		Intervalle entre les pédicules
	Haut^{r}	Larg^{r}	Epais^{r}	Long^{r}	Larg^{r}	
D. pugilator	60	70		190		
P. arrosor	200 à 400	100 à 150	70 à 100	550 à 800	25	50 à 100
P. callidus	180 à 360	95 à 150	65 à 80	400 à 700	id.	id.
C. misanthropus	80 à 110	80 à 130		150	40 à 70	
C. ornatus	65 à 100	65		25 à 75		
P. oculatus	80-90	55	40			

la continuité entre les embases soudées ensemble et par la présence de voiles qui réunissent les pédicules entre eux sur toute leur longueur, en laissant les ampoules libres au-dessus. Il se forme ainsi ce que nous appellerons un *ruban* ininterrompu de spermatophores, dont seules les ampoules, restées libres et isolées, dépassent (fig. 15).

La suture est très difficilement visible sur les ampoules pleines. Seuls les acides concentrés, en particulier l'acide nitrique, éclaircissent suffisamment le contenu spermatique pour permettre de voir la ligne où se joignent les deux valves de la coque (Pl. II, fig. 1). Examinée de face, l'ampoule paraît surmontée d'un bourrelet hyalin, qui semble parfois formé par les bords épaissis de la coque. Vu de profil, ce bourrelet est très apparent dans l'eau de mer (Pl. II, fig. 2 et 17 A) ; il ne s'étend pas sur tout le pourtour de l'ampoule, et coiffe seulement le sommet, en descendant de chaque côté jusqu'au quart environ de la hauteur du réservoir. Cet épaississement disparaît dans les solutions alcalines ; il est invisible dans le mucus du canal génital. On ne

le discerne pas non plus, lorsque l'ouverture des valves se fait au sommet de l'ampoule, et on peut penser qu'il a été dissous à ce moment. Au-dessus de l'insertion de la coque sur le pédicule, les valves sont reliées ensemble par un épaississement médian que MOUCHET a appelé la *columelle* (*c*, fig. 17 B), et dont elle indique le mode de formation.

Cet auteur décrit aussi deux prolongements latéraux de la coque en sorte de canaux, qui descendent de chaque côté des pédicules vers l'embase ; elle ajoute d'ailleurs « il est impossible de les distinguer peu après leur départ de l'ampoule ». Nous n'avons pu voir ces canaux minces de chaque côté du pédicule, et nous ne pensons pas qu'ils existent. La coque a toujours paru se terminer par deux pointes fermées, insérées de part et d'autre du sommet du pédicule (fig. 18). D'autre part, lorsqu'on ob-

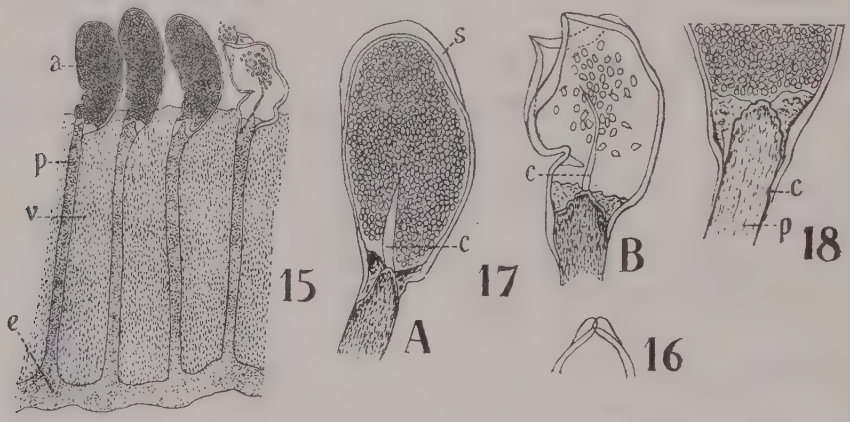


Fig. 15. Ruban de spermatophores de *Pagurus*. a = ampoule ; *e* = embase ; *p* = pédicule ; *v* = voile. G = 66.
Fig. 16. Suture du spermatophore de *Pagurus* vue de face.
Fig. 17 Ampoules. *c* = columelle. A. Pleine : B. Ouverte, vidée. G = 130.
Fig. 18. Insertion de la coque sur le pédicule. *c* = coque terminée en pointe ; *p* = pédicule.

tient la dissolution complète des voiles, pédicules et embase qui forment le ruban, par l'action de la potasse ou de la chaux, les ampoules se trouvent libérées car leur coque est plus résistante à cette hydrolyse que ne le sont les autres parties. L'ampoule ainsi isolée est terminée par deux pointes latérales, placées dans le plan des valves et qui, dans le ruban intact, coiffent le pédicule. S'il existait des prolongements de la coque, faits de la même substance qu'elle, ils résisteraient de la même façon à la dissolution par les alcalis un peu forts. Mais ce n'est pas le cas. On peut voir, cependant, après la coloration des spermatophores par le bleu de toluidine, une bande médiane et deux bandes latérales inégalement colorées dans le voile, dénotant des différences d'épaisseur ou de texture.

Examinés en lumière directe, dans leur milieu, dans le conduit génital, les ampoules sont jaunâtres, un peu hyalines, les embases plus opaques, les voiles et les pé-

dicules étant presque transparents. Vues en lumière réfléchie : l'ampoule et l'embase sont blanches, les autres parties hyalines, à peine blanchâtres.

La seule différence appréciable entre les spermatophores des deux espèces de *Pagurus, P. arrosor* et *P. callidus*, réside dans la forme plus courte et relativement plus large des ampoules de la première espèce, qui sont également élargies à leur point d'insertion sur le pédicule.

Chez *Clibanarius*, la suture est difficilement visible, à cause de l'aplatissement des réservoirs. On peut la discerner en faisant varier constamment la mise au point, sur les appareils entiers ; mais il a été impossible de la photographier. On la voit mieux sur des coupes de canaux déférents contenant des spermatophores entièrement constitués. En section transversale, les ampoules présentent, au sommet de la suture, un bourrelet indiscernable sur l'appareil intact. La coque, comme pour les spermatophores munis de pédicules, présente une duplicature : la *columelle*, à sa partie médiane inférieure. Les réservoirs coiffent un pédicule large qui remonte un peu dans la columelle, en se rétrécissant vers le haut (fig. 19). Les pédicules sont reliés les uns aux

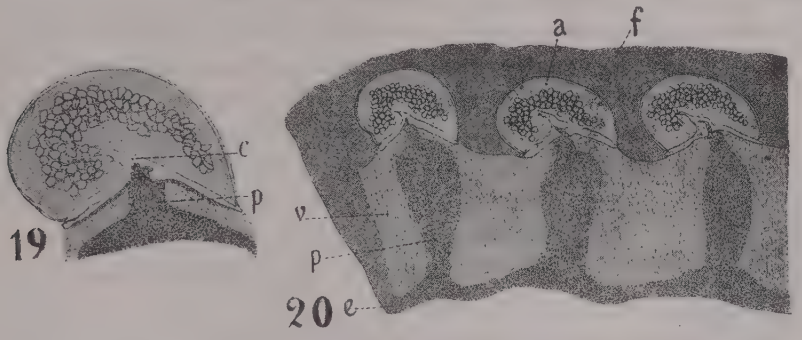


Fig. 19. Ampoule de spermatophore de *Clibanarius misanthropus*. *c* : columelle ; *p* : pédicule. G = 250.

Fig. 20. Ruban de spermatophores de *C. misanthropus* ne montrant qu'un des feuillets latéraux. *a* : ampoule ; *e* : embase ; *f* : feuillet ; *p* : pédicule ; *v* : voile. G = 120.

autres, sur toute leur longueur, par un voile transparent, comme chez *Pagurus*. Au bas du voile, se trouve l'embase qui forme un bourrelet continu. Il y a en outre, une formation supplémentaire constituée par un double feuillet de substance hyaline, située de part et d'autre de la lame qui supporte les ampoules. Ces feuillets, qui dépassent les réservoirs, se gonflent en s'écartant de la lame centrale lorsqu'ils sont expulsés du canal déférent dans un milieu aqueux (fig. 20.).

L'aspect du ruban de spermatophores examiné en lumière directe et réfléchie présente les mêmes particularités que chez les autres Pagures. Les feuillets latéraux sont transparents et incolores.

Seuls sont biréfringents en lumière polarisée, les coques (comme chez les *Eupagurus* et *Pagurus*), les pédicules (comme ceux des *Pagurus*) et l'embase.

C. ornatus n'appartient plus au genre *Clibanarius* auquel il était rattaché sous le nom de *Cl. rouxi* RISSO. La ressemblance de ses spermatophores avec ceux de l'espèce précédente est très grande. La seule différence observée porte sur leur taille plus réduite chez *Calcinus*, les mâles examinés ayant été plus petits.

Les spermatophores de *P. oculatus* (fig. 9. Pl. II), sont réunis en un ruban continu. Les ampoules ovoïdes se prolongent par un pied assez court qui s'appuie sur une embase continue, d'une épaisseur un peu inégale. Il n'y a pas de pédicules de substance spéciale comme chez les *Pagurus*, *Clibanarius* et *Calcinus*. Chaque ampoule possède un réservoir accessoire qui contient quelques spermies. Cette particularité rapproche ces appareils de ceux d'*E. prideauxi* (fig. 3. *ra* Pl. II).

Autour du ruban spermatique, constitué par les réservoirs et l'embase unique, il y a un voile qui enferme les ampoules complètement. Il est rattaché à l'embase par ses deux côtés, mais n'est relié ni aux réservoirs ni à leurs pieds. Il est plissé transversalement sur toute sa longueur et ses plis s'insinuent entre les spermatophores. D'après MOUCHET, ce voile serait formé par deux feuillets latéraux placés de part et d'autre de la lame où sont les réservoirs à sperme. Elle dit cependant : « Toute la paroi interne glandulaire du canal paraît participer à l'élaboration de l'enveloppe et il semble qu'il y ait continuité entre les deux feuillets ». En effet, le voile paraît bien être continu ; on ne voit à son sommet aucune suture, ni aucune fente indiquant qu'il soit formé de deux lames soudées ensemble.

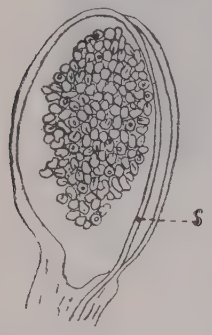


Fig. 21. Ampoule de spermatophore de *Pagurisles oculatus* montrant la suture dans l'acide chlorhydrique concentré. G. = 415.

Il est difficile de voir que la coque est bivalve. Il semble, cependant, que la présence de la suture puisse être, au moins partiellement, mise en évidence dans l'acide chlorhydrique concentré, en faisant varier la mise au point du microscope (fig. 21). En lumière directe et en lumière réfléchie, les spermatophores ont le même aspect que ceux des autres genres. Le voile est transparent et incolore.

Structure interne.

Dans les ampoules des spermatophores de tous les Pagurides, les spermies baignent dans un sol colloïdal incolore. Chez la plupart de ceux que nous avons étudiés, les spermatozoïdes remplissent toute la cavité, le mucus les enrobant seulement. Mais chez *Clibanarius* et *Calcinus*, il est rare que les spermatozoïdes occupent tout l'espace à l'intérieur de la coque. On trouve 50 % environ des individus dont les réservoirs sont assez pleins ; les autres ont beaucoup moins de gamètes dans chaque ampoule (parfois moins de 10) et une plus grande quantité de liquide autour d'eux. Ces variations dans la densité spermatique expliquent des différences dans le comportement des spermatophores de ces deux espèces dans certains milieux, ainsi que nous aurons l'occasion de le voir plus loin.

La coque des réservoirs spermatiques des Pagures possède toujours les mêmes caractères de semi-rigidité, de transparence et d'extensibilité que l'on trouve aux enveloppes des appareils d'*E. prideauxi*. La coque de *Paguristes* est moins résistante que chez les autres espèces ; elle est aussi plus sensible à l'action des agents lytiques.

L'embase a des caractéristiques communes chez tous les Pagurides, qu'elle soit séparée en tronçons dans les appareils individualisés ou continue dans les rubans de spermatophores. Elle est faite d'une matière blanche, opaque, élastique et adhésive qui se fixe aux surfaces.

Les pédicules, qui existent dans les productions de *Diogenes* et de *Pagurus*, sont des formations qui diffèrent de l'embase (bien qu'elles aient le même aspect), en ce qu'elles ne sont pas visqueuses et ne diffluent pas sur les bords ; mais les pédicules sont aussi une substance très élastique que l'on peut étirer sans rupture à l'aide d'aiguilles, jusqu' à trois ou quatre fois leur dimension normale ; lorsqu'on cesse la traction ils reprennent leur longueur primitive. Chez *Clibanarius* et *Calcinus*, les pédicules sont moins nettement séparables de la lame où il sont insérés ; mais ils sont constitués de façon analogue.

Les voiles, qui unissent les pédicules entre eux (*Pagurus*, *Clibanarius*) ou entourent les spermatophores (*Clibanarius*, *Calcinus*, *Paguristes*), sont des membranes également anhistes, hyalines. Elles sont extensibles aussi, mais moins que les pédicules et se déchirent quand la traction devient un peu forte.

Toutes ces parties sont susceptibles de s'imbiber d'eau et de gonfler ; le ruban s'allonge, parfois beaucoup, et s'élargit. Il peut devenir transparent et presqu'invisible dans le liquide où il baigne, dans la soude par exemple.

Valeurs du pH des différentes parties du spermatophore et du canal déférent.

Nous n'avons pris de mesure du pH, à l'aide des indicateurs colorés, que sur les appareils de *Pagurus* et de *Clibanarius*. Les valeurs obtenues sont très voisines de celles que nous avons trouvées pour les productions d'*E. prideauxi* et permettent de penser qu'elles sont du même ordre pour tous les spermatophores de Pagurides, à quelques petites variations près.

Chez les *Pagurus*, les données obtenues, à l'aide du bromothymol bleu et du bromocrésol pourpre, ont été les suivantes :

pour l'embase pH 6,6 ;

pour l'ampoule pH 6,6 (coque et contenu spermatique) ;

pour le voile pH 6.6 ;

pour les pédicules pH 7,2 (au bromothymol bleu seulement). A l'intérieur du canal déférent, le mucus et la paroi du canal ont une acidité nette, de valeur égale à pH 6,2.

Ces résultats indiquent, dans l'ensemble que les spermatophores de *Pagurus* ont une acidité un peu plus grande et plus régulière que ceux d'*E. prideauxi*.

Les spermatophores de *Clibanarius* donnent les pH suivants, mesurés avec les deux indicateurs précédents et parfois avec le rouge de phénol :

pour l'embase pH 7.0 ;
pour les pédicules pH 7,0 ;
pour le voile pH 6,6 à 6,8 ;
pour la coque pH 6,6 et 6,9 ;
pour les spermies pH 6,6 ;
pour les feuillets latéraux pH 6,2 à 6,4.

Le mucus autour du ruban spermatique dans le conduit génital est à pH 6,0-6,4. Les pH des différentes parties ne sont pas très constants et les différences entre eux sont plus grandes que chez les *Pagurus* ; ils se rapprochent davantage de ce que l'on observe chez *E. prideauxi* (p. 6)

A cause du petit nombre de gamètes qu'ils contiennent, les spermatophores de *Clibanarius* et de *Calcinus* sont les seuls dans lesquels on puisse évaluer le pH du colloïde interspermatique d'une façon nette, et l'on voit qu'il est le constituant le plus acide de tout l'appareil ; il est, en effet, à pH 6,0 à peu près.

2) La composition chimique des spermatophores.

Les recherches que nous avons pu poursuivre sur la nature de ces constituants n'ont été effectuées en détail que sur les appareils du genre *Pagurus*, surtout de *P. callidus*. A part des essais d'ordre très général, faits sur le ruban spermatique de *Clibanarius* et sur celui de *Paguristes*, dont les résultats concordent complètement avec ceux fournis par les spermatophores mieux étudiés ; nous n'avons pas disposé d'assez nombreux exemplaires des autres espèces pour analyser leurs productions spermatiques.

1) *Examen direct du spermatophore entier dans les réactifs.*

Les trois réactions principales des protides (xanthoprotéique, du biuret et de Millon) donnent des colorations positives, nettes sur toutes les parties du ruban de spermatophores. Le réactif de Millon révèle ,de plus, des différences quantitatives des constituants élémentaires des diverses régions : l'embase et les pédicules sont plus vivement colorés que l'ampoule et les voiles.

Les réactions caractéristiques de la présence d'un groupement sucré (voir p. 9) sont positives sur toutes les substances qui composent les réservoirs et leurs annexes. La coloration violette due à l'action du thymol et de l'acide sulfurique est difficile à obtenir et reste faible sur les appareils entiers, car ils sont rapidement hydrolysés lorsqu'on chauffe, comme cela est nécessaire.

Le ruban spermatique des *Pagurus* apparaît donc aussi comme formé de glucoprotides, ou protéines conjuguées à groupement prosthétique sucré.

2) *Hydrolyse des substances à analyser.*

La présence des spermatozoïdes dans le produit de l'hydrolyse des spermatophores est, ici encore, l'écueil qui empêche de pouvoir faire les réactions sans les contrôler par la recherche sur les appareils entiers.

Hydrolyse acide et alcaline.

La dissolution du ruban dans les acides forts est rapide, les voiles et les pédicules étant liquéfiés les premiers. Il en est de même dans les alcalis, dont une solution normale, par exemple, dissout les voiles et pédicules ; l'action de l'eau de chaux est semblable. Les coques et l'embase résistent davantage.

Hydrolyse enzymatique.

Les spermatophores de *Pagurus* ont été traités par les milieux digestifs, établis selon les formules de De Waele, indiquées p. 10.

Voici les résultats obtenus avec les appareils de P. *callidus* : le mélange pepsique, à pH 2, à 37°, digère tout le ruban, sauf les coques, en trois jours. Les contenus spermatiques, expulsés par éclatement du réservoir au début de l'immersion dans le liquide, sont lysés. A la température ordinaire (16°), il y a un début de digestion qui reste incomplète.

Le mélange trypsine-bile de bœuf à 37° digère les coques et les voiles en 6 heures. Les embases et les pédicules résistent pendant plusieurs jours, mais subissent cependant une attaque importante.

Le ruban spermatique de *P. arrosor*, traité par le mélange trypsique à 37° est digéré aussi, en quelques jours, sauf des fragments de l'embase qui subsistent encore au bout de 10 jours.

Ces résultats montrent que le voile est formé d'une substance très sensible à l'action de tous les agents lytiques ; les pédicules et embases résistent partiellement à la protéolyse trypsique, mais non à la digestion pepsique, à l'inverse de l'embase d'*E. prideauxi* ; les coques se comportent, toutefois, de la même façon chez les deux genres.

Analyse des constituants du spermatophore.

A. *Le groupement protidique.*

Nous avons vu (p. 11) que les réactions générales caractérisant les protides permettent aussi d'identifier certains aminoacides de leur molécule. C'est ainsi qu'elles indiquent la présence de tyrosine et de tryptophane, entre autres noyaux phénoliques, cycliques ou hétérocycliques, dans les substances du spermatophore. Les différences de coloration des diverses parties accusent des teneurs inégales en ces deux acides aminés : le voile rose pâle, et la coque rose un peu plus foncé, sont l'indice d'une légère prédominance de tyrosine dans ces deux régions ; les pédicules et l'embase

rouge-brique montrent qu'ils contiennent davantage de ces deux aminoacides, mais surtout du tryptophane.

La présence de tyrosine est confirmée par la diazoréaction ; la réaction de MOERNER la décèle aussi, mais elle ne se montre nette que sur l'embase des spermatophores, le reste du ruban étant devenu très hyalin par suite de la concentration de l'acide sulfurique dans le réactif. L'absence de coloration dans la réaction chromaffine montre qu'il n'y a pas de di ou polyphénols en position ortho ou para dans les substances du ruban spermatique.

Le tryptophane est révélé par toutes ses réactions caractéristiques (voir p. 12).

L'arginine est présente dans toutes les parties du ruban, lorsqu'on la met en évidence par la réaction de SAKAGUSHI ; celle de NORRIS et HARDEN au diacétyle n'a pas pu s'observer à cause de la transparence extrême des appareils dans la soude.

Comme chez *E. prideauxi* la recherche de l'histidine et de la phénylalanine a été infructueuse.

En revanche, on trouve les composés sulfhydrilés, dont la forme soluble qu'est le glutathion oxydé et des groupements fixés aux protides.

La réaction au nitroprussiate de la forme réduite du glutathion est négative, sauf sur les spermies dans l'ampoule. Mais après réduction à l'aide du cyanure de potassium pendant 8 minutes environ, on voit apparaître la coloration qui montre qu'il existe du glutathion oxydé, surtout dans l'embase, plus vivement teintée ; la coque restant très pâle.

Après extraction des formes solubles, les groupements SH fixes sont démasqués et font apparaître une coloration violacée plus intense, dénotant la présence plus abondante de cystéine liée aux autres acides aminés. Comme chez *E. prideauxi*, on peut déceler, en outre, de la cystine fixée aux protides, que l'on transforme en cystéine en la réduisant par CNK, après démasquage et avant de mettre le nitroprussiate de soude. Il se fait une coloration un peu plus forte, attribuable aux nouveaux groupes réduits.

Il résulte de ce qui précède que l'on trouve, pour les appareils des *Pagurus*, les mêmes groupements aminoacides dans les molécules protidiques des diverses régions que dans les spermatophores d'*E. prideauxi*. Ce sont la *tyrosine*, dans toutes les parties du ruban ; l'*arginine*, répartie partout également ; le *tryptophane*, présent dans tout le spermatophore, mais en faible quantité dans la coque ainsi que dans le voile qui est, le plus souvent, à peine coloré ; la *cystéine* et la *cystine*, acides thioaminés fixés aux protéides, révélés dans tout le ruban spermatique, de même que la forme soluble des groupements sulfurés, représentée par le *glutathion oxydé*.

B. *Le groupement prosthétique.*

Certaines parties des spermatophores de *Pagurus* possèdent les propriétés chromotropes qui caractérisent les glucoprotéides ayant pour groupement des esters sulfuriques de polyosides à poids moléculaire élevé.

Les colorants métachromatiques, tels que le bleu de toluidine, colorent les coques, le voile et le mucus du conduit génital dans leur teinte métachromatique. Dans le voile, entre deux pédicules voisins, on distingue deux régions chromotropes, colorées avec des intensités différentes : une partie médiane, plus claire, bordée latéralement par deux bandes plus foncées, touchant les pédicules par un côté. Ces inégalités proviennent-elles d'une différence d'épaisseur, ou d'une structure plus compacte dans les zones d'ombre ? Il est difficile de le déterminer avec précision. Il y aurait, dans ces régions, un groupement prosthétique présent sous forme d'un ester sulfurique. Dans le ruban d'embase et les pédicules, qui prennent la nuance chromatique de ces colorants, il n'y a, par contre, aucun groupement estérifié de l'acide sulfurique.

La coloration par le mucicarmin, faite selon la méthode de Masson, confirme ces données, en apparentant nettement les substances de la coque et du voile aux mucines, colorables en rouge, et en laissant les pédicules et embases colorés par le jaune de métanile.

Pas plus que chez *E. prideauxi*, nous n'avons pu déterminer si nous étions en présence d'un mucoprotéide vrai ou d'un chondroïde, qui contiennent les seuls esters sulfuriques connus chez les animaux jusqu'à présent. Comme nous l'avons déjà dit, les méthodes actuelles ne permettent pas une analyse très précise du groupement prosthétique sur des quantités aussi faibles de matériel.

On trouve donc, dans le canal déférent des *Pagurus*, trois substances, apparentées à des mucoprotéides connus, par leur propriétés physiques (solubilité, consistance, chromotropie, etc.) : ce sont, rangées par ordre croissant de consistance et dans l'ordre inverse de leur solubilité : le mucus, entourant les spermatophores, visqueux et facilement soluble dans l'eau et les solutions alcalines faibles, ; le voile, substance solide, ayant une forme définie, se dissolvant dans les alcalis plus forts (solution normale ou plus concentrée) mais non dans l'eau : la coque, enfin, plus rigide, résistant plus longtemps et à des teneurs alcalines plus élevées que les voiles.

Les protéides de l'embase et des pédicules, qui contiennent un reste glucidique, comme l'embase d'*E. prideauxi*, n'ont pu être rattachés avec certitude ni aux holoprotéides, ni aux hétéroprotéides.

Nous avons essayé d'identifier la nature des glucides contenus par les différentes parties du ruban, soit sur le frais, soit après fixation à l'alcool ou au formol. La méthode de Selivanoff (voir p. 16) montre l'absence de cétose dans toutes les parties du spermatophore. L'orcinol, en milieu chlorhydrique fournit la coloration orangée des hexoses : mais la réaction de Thomas, au βnaphtol-acide sulfurique, donne des résultats contradictoires : sur le frais, elle indique la présence des pentoses (coloration bleu-outremer du liquide diffusant du ruban aussi bien que des spermies). Mais les spermatophores fixés ou simplement conservés dans l'eau de mer pendant 24 heures, ne donnent qu'une teinte brune ou verdâtre. La réaction nucléale de Feulgen, (action de la fuchsine basique décolorée par l'acide sulfureux, après hydrolyse légère), caractéristique du *d. ribodésose*, reste négative, sauf au niveau des spermies,

ce qui montre que cet aldopentose n'est pas en cause. Peut-être s'agit-il de d. ribose, qui ne recolore pas la fuschine décolorée ?

Les tentatives faites pour obtenir l'osazone de ces glucides sont demeurées aussi infructueuses qu'avec les appareils d'*Eupagurus*, en opérant suivant la même technique (p. 17).

Conclusions.

On peut conclure, pour les spermatophores de *Pagurus* comme pour ceux d'*Eupagurus*, qu'ils sont formés de substances glucoprotidiques dont certaines sont apparentées aux mucines, alors que les autres ne possèdent pas d'ester sulfurique de polyholoside comme groupe prosthétique et n'ont pas été identifiées. Le groupement protéique des molécules contient les aminoacides suivants, en quantité variable selon les différentes parties du ruban : tyrosine, arginine, tryptophane, acides thioaminés, et le tripeptide qu'est le glutathion.

De même, les quelques expériences faites sur les appareils de *Clibanarius* et de *Paguristes* montrent que ce sont également des glucoprotides qui les constituent.

b) LE SPERMATOPHORE A L'ÉTAT DYNAMIQUE.

Historique.

Rien n'a été dit en ce qui concerne l'ouverture des ampoules des *Eupagurus excavatus* et *anachoretus*, ni des *Pagurus*, *Paguristes* et *Calcinus*, tant dans les conditions naturelles qu'expérimentales. Chez *Diogenes*, F. Bloch a obtenu quelques déhiscences *in vitro*, dans les acides et alcalis faibles (0,1 %). S. Mouchet, sur les spermatophores de la même espèce obtient aussi des déhiscences dans l'acide chlorhydrique concentré ou dilué à 0, 05 %, dans la soude concentrée, et, enfin, dans l'eau distillée. Chez *Clibanarius* la déhiscence naturelle des spermatophores n'a pas davantage été observée ; mais leur ouverture expérimentale a été produite par Mouchet en les soumettant à l'action de l'eau distillée, de la soude et de l'acide chlorhydrique concentrés.

Nous avons repris ces quelques expériences, et, pour certaines espèces, *P. arrosor* et *callidus* et *C. misanthropus*, nous les avons étendues par les mêmes recherches que celles faites sur les appareils d'*E. prideauxi*. Pour celles dont nous avons disposé de très peu d'exemplaires, nous n'avons fait intervenir que les principaux agents du blocage et de la déhiscence des spermatophores.

1) Déhiscence expérimentale du spermatophore.

Méthodes employées.

Nous avons seulement un peu modifié la technique décrite à propos des appareils

d'*E. prideauxi* (p. 20) dans les expériences sur le ruban spermatique de *Clibanarius* et de *Calcinus*, à cause de sa petite taille et du nombre restreint d'ampoules dans chacun des conduits déférents. La partie distale du canal était fragmentée en deux ou trois tronçons placés directement dans les solutions à expérimenter, puis le ruban de spermatophores ensuite extrait de ces tronçons. Pour faciliter l'examen à un fort grossissement la préparation était, en général, placée sous lamelle. Les différentes solutions devant agir successivement sur les mêmes ampoules ont été passées sous la lamelle par aspiration à l'aide de papier filtre.

Les résultats obtenus sont du même ordre chez toutes les espèces, malgré de petites différences spécifiques de la sensibilité, compte tenu des variations individuelles que l'on trouve chez tous les Pagures étudiés.

Modifications expérimentales du milieu.

1. *Rôle du pH des solutions.*

Comme dans le cas des spermatophores d'*E. prideauxi*, nous avons tenté de vérifier, sur les appareils des autres Pagurides, si l'action des ions H^+, seuls, était efficace dans le blocage observé à l'intérieur du conduit génital et si les ions OH^-, à l'opposé, provoquaient régulièrement la déhiscence des appareils spermatiques.

Action des ions H^+.

Les expériences faites sur les appareils d'*E. anachoretus*, de *Diogenes* et de *Paguristes* ont été réduites à l'emploi de quelques unes des solutions de la série indiquée au tableau I. Des solutions à 10 et à 50 % d'HCl concentré ont, de plus, servi sur les ampoules de *Clibanarius*. Mais, sur les spermatophores de *Pagurus*, surtout sur ceux de *P. callidus*, nous avons utilisé les mêmes acides que ceux indiqués pour *E. prideauxi*, et, en outre, l'acide sulfurique, comme acide divalent, et l'acide acétique, en solutions normales et décinormales (les pH qui correspondent à ces taux d'acide acétique sont respectivement pH 2,37 et pH 2,87, valeurs prises dans Legendre, 1925).

Déhiscences. — En règle générale, nous savons que les spermatophores ne s'ouvrent pas dans les milieux acides. C'est le cas de ceux de *Clibanarius*, *Calcinus* et *Paguristes*. Mais il y a des exceptions individuelles chez *E. anachoretus* dans HCl millinormal au plus ; chez *Diogenes* tout éclate en 2 à 4 minutes dans les acides chlorhydriques à N/100 et oxalique normal. ; chez les *Pagurus*, de nombreux individus ont leurs ampoules sensibles aux solutions centinormales et plus diluées, et non aux concentrations plus élevées. Le nombre des déhiscences, très variable, peut atteindre 95 % des appareils. Dans l'eau de Seltz, l'acide carbonique empêche tout éclatement chez ce genre. Dans tous les appareils, les acides concentrés purs produisent la lyse de la suture avant toute autre partie.

Gonflements. — La dilatation des ampoules produite par les acides varie avec la concentration en ions H^+ des solutions (tableaux XI et XII). Souvent les coques gonflent davantage que le contenu des réservoirs.

TABLEAU XI.

Variations de la longueur moyenne (exprimée en μ) des ampoules des spermatophores, en fonction de la nature et de la concentration de l'acide. Action consécutive de la soude centinormale.

Espèce	Concentration de l'acide	ClH	remplacé par NaOH N/100	SO^4H^2	remplacé par NaOH N/100	CH^3COOH	remplacé par NaOH N/100
	Normal	412		445		524	
P. arrosor	N/10	484	437	472	421	501	427
N° 32	N/100	539	428	456	488	392	427
	N/1000	376		388		352	
	Normal	456		472		572	
P. callidus	N/10	560	472	52	472	549	516
N° 19	N/100	617	496	517	528	448	520
	N/1000			420		408	

Variations de la longueur moyenne des ampoules (exprimée en μ) soumises successivement aux ions H^+ puis OH^-, et OH^- puis H^+.

Espèce	Longueur dans le canal déférent	ClH N/100	remplacé par NaOH N/100	NaOH N/100 renouvelée	remplacé par ClH N/100
P. callidus N° 20	272	432	328	354	461
P. callidus N° 19	364 ..	.....	.. 539 ..	.....	.. 592
P. arrosor N° 32	320 ..	.....	.. 392 ..	.....	.. 450

TABLEAU XII.

Variations de la longueur (exprimée en μ) de la coque et du contenu des ampoules dans ClH *à différentes concentrations.*

Concentration acide	*P. oculatus*		*P. arrosor*	
	coque	contenu	coque	contenu
ClH concentré			320	250
ClH à 10 %			300	
— normal	90	80	310	
— N/10	90	70	310	
— N/100	100	85	400	330
— N/1000			300	270
— N/10.000			280	250

TABLEAU XIII.

Variations de la largeur des spermatophores (exprimée en divisions du micromètre oculaire) soumis à différentes concentrations de ClH.

Concentration acide	*C. misanthropus*			*C. ornatus*
	1	2	3	
ClH N/1000	2,4	1,6 - 1,7	2,0 - 2,5	2,0
— N/100	3,2	2,9	3,4	
— N/10	2,6	2,4	3,0	2,3
— à 1 %	2,6	2,3	2,9	
— à 10 %	2,1	2,0	2,3	2,1
— à 1 %	2,3	2,1	2,6	2,2
— N/10	2,5	2,3	2,6	2,2
— N/100	2,7	2,4	3,0	2,4
— N/1000	3,2	2,9	3,6	2,3

Les variations, faibles chez *E. anachoretus* et *Clibanarius*, sont plus nettes chez *Pagurus* et *Paguristes* et dépassent celles qui se produisent chez *E. prideauxi*. Le tableau XIII rend compte de ces variations respectives des volumes de la coque et du contenu spermatique. (Pl. II, fig. 4).

Comme pour les productions d'*E. prideauxi*, le volume maximum en milieu acide est atteint aux environs de pH 2, correspondant à la solution centinormale d'HCl, et voisin du pH de la liqueur décinormale des acides acétique et oxalique (voir tableau I).

Les parties annexes des spermatophores gonflent et s'allongent beaucoup dans les divers milieux acides et proportionnellement au pH, par suite de la lyse croissante qui s'effectue.

Contrairement aux données obtenues par Loeb, nous ne trouvons pas de différence appréciable entre le gonflement des ampoules dans l'acide sulfurique et dans l'acide chlorhydrique. La petite différence que donnent les mesures n'est pas de l'ordre de celle qu'indique l'auteur précité pour l'albumine et la gélatine.

Coagulations. — Elles se produisent au bout d'un temps plus ou moins long, d'autant plus court que le pH est plus bas, nécessaire à la pénétration de l'acide. Les masses spermatiques expulsées du réservoir sont coagulées dès le début des éclatements.

Tant que les acides restent assez faibles les autres parties du spermatophore sont d'abord coagulées, et, comme les ampoules, elles deviennent plus opaques que dans le canal déférent ; plus tard et en solution plus concentrée (N/10, parfois N/100) il se fait une hyalinisation rapide de toutes les régions. C'est ainsi que les acides concentrés produisent un éclaircissement suffisant pour permettre de voir la suture de face (Pl. II, fig. 5), chez *Pagurus* notamment. L'embase et les voiles annexes deviennent déliquescents à cause de l'hydrolyse qui s'effectue.

De même, le mucus autour des spermatophores dans le conduit est floculé dans les solutions faibles et dissous dans les milieux plus acides.

Action des ions OH^-.

Nous avons fait agir seulement la soude sur les spermatophores de tous les Paguridés étudiés, sauf sur ceux de *Pagurus* que nous avons, en outre, traités par la potasse, l'ammoniaque à diverses concentrations, et les eaux de magnésie et de chaux.

Soude. Les solutions aux diverses concentrations indiquées p. 26 ont été employées.

Pour les appareils d'*E. excaratus*, *E. anachoretus*, et *Diogenes* les résultats concordent avec ceux fournis par *E. prideauxi*. Le tableau XIV rend compte de la vitesse et du pourcentage d'ouvertures des spermatophores d'*E. anachoretus*

Les spermatophores des deux *Pagurus* s'ouvrent dans les solutions de soude, mais chez *P. callidus* il y a de grandes variations, selon la concentration, dans le pourcentage des éclatements. Dans les solutions à N/10 et N/50 il n'y a parfois aucune déhiscence, alors que les appareils du même Pagure s'ouvrent rapidement en liqueur normale

TABLEAU XIV.

Temps d'éclatement des spermatophores

dans des solutions de soude à différentes concentrations.

Concentration de la soude	*E. anachoretus*		
	N° 2	N° 3	N° 4
Normale	2 min.	1 min.	2'45''
N/2			4'45''
N/4			5'5''
N/5	11''	3'	5'55''
N/10	21'	3'15''	9'
N/20			15'15''
N/50	22'	11'30''	18'45''
N/70	80 % en 1 h.		6'30''
N/100	30'	3'30''	5'15''
N/200			9'30''
N/500	33 % en 1 h.	3'30''	21'15''
N/700			8'15''
N/1000	0 en 1 h.	3'30''	7'

et à N/500. Quand tous les appareils éclatent, il se produit en tous cas, chez les deux espèces, des variations dans la vitesse des déhiscences en rapport avec les concentrations employées. Comme chez *E. prideauxi*, on peut noter deux maxima dans les vitesses d'ouverture, placés, en général, aux dilutions normale et centinormale. Dans l'ensemble, les spermatophores des *Pagurus* sont moins sensibles à l'action de la soude

que ceux de l'*Eupagurus*. Les déhiscences pour un même taux d'alcalinité, sont plus longues à se produire, ou fréquemment arrêtées, dans le cas des appareils de *Pagurus*.

L'ouverture des spermatophores est, ici aussi, en rapport avec des phénomènes de gonflement et d'imbibition des colloïdes. Le ruban auquel sont rattachées les ampoules subit une dilatation proportionnelle au degré d'alcalinité. Dans les solutions décinormale et normale le ruban, complètement liquéfié, se transforme en une masse visqueuse et filante ; les réservoirs spermatiques dont la coque résiste, se trouvent libérés.

Au bout d'une minute, le colloïde interne de l'ampoule est coagulé en même temps qu'il se dilate, de sorte que le contenu spermatique est expulsé sous forme de paquets plus ou moins gonflés. (Pl. II, fig. 6).

Chez *Clibanarius* et *Calcinus* les observations, comme toujours, très variables selon les individus, sont d'autant plus difficiles à comparer que peu d'expériences peuvent être faites sur les appareils du même exemplaire. Si les augmentations de volume sont constantes pour tous les rubans spermatiques, il n'en est pas de même des déhiscences, qui parfois ne se produisent pas du tout. D'autres fois, tout ou partie éclate en 1 heure ou moins (1). Il n'y a pas de vitesse maximale nette dans les ouvertures, et on observe peu de différences dans l'action des diverses concentrations alcalines ; les éclatements ont lieu en 1 à 30 minutes en moyenne, à n'importe quel pH des solutions.

L'absence fréquente d'éclatements et l'inconstance de leur nombre et de leur vitesse, quand il y en a, proviennent peut-être du nombre variable de spermies dans les réservoirs, car la dévagination des spermatozoïdes joue un rôle important dans l'accroissement de la pression à l'intérieur de l'ampoule. Mais nous n'avons pas pu établir nettement que les spermatophores contenant peu de spermies fussent entièrement réfractaires ; ils étaient seulement moins nombreux à s'ouvrir, chez les individus examinés à cet égard.

Le ruban spermatique se dilate tout entier et le sol colloïdal dans l'ampoule est floculé et gonflé au point que les spermies se trouvent écartées les unes des autres. A partir de la solution centinormale, il se fait une dissolution des diverses régions des spermatophores ; la coque résiste, cependant, sauf à une forte alcalinité .

Les appareils spermatiques de *Paguristes*, sous l'effet des ions OH^-, ne s'ouvrent pas par la suture, comme chez les autres Pagures. Le sommet de la coque est dissous dans les liqueurs de concentration croissante à partir de la valeur N/10, puis la coque et le pied continuent à se dissoudre jusqu'à l'embase ; les voiles subissent la même action. A tous les pH inférieurs, il n'y a plus d'éclatement ; mais on observe les gonfle-

(1) C'est à tort que nous avons indiqué les spermatophores de ces deux espèces comme réfractaires à la déhiscence par la soude, dans notre note à l'Académie des Sciences. (T. 204, p. 149, 1937).

ments habituels de toutes les parties avec un maximum de dilatation des ampoules dans la soude à N/100, la coque souvent plus distendue que son contenu.

Potasse. Utilisée seulement sur les spermatophores de *Pagurus* elle produit, à peu de différences près, des ouvertures aussi rapides que dans la soude. Le tableau XV montre cette similitude. (Pl. II, fig. 7).

TABLEAU XV.

Temps et pourcentages des déhiscences des spermatophores dans les différents alcalis

Concentration en mol. gramme	*P. callidus* N° 11		
	KOH	NaOH	NH^4OH
Normale (pH 14)	8'35'' et 1'	10'10''	(pH 11,77) 3 lots : 1'20'' 2' 45'
N/10 (pH 13)	0 éclatement	0 écl.	(pH 11,27) 10' 3'40''
N/100 (pH 12, 12)	30'	26'	(pH 10,77) 3'30'' 2'30'' et éclatement de 13/20 des appareils en 1 h.
N/1000 (pH 11,13)	Eclatement de 2/44 des appareils en 1 h.	18'30''	(pH 10,27) 3' et éclatement de 4/68 des appareils en 1 h.

Ammoniaque. Dans les solutions ammoniacales, les résultats obtenus avec les appareils de *Pagurus* sont très variables. Les déhiscences sont moins nombreuses, plus irrégulières et ne présentent pas de maximum de vitesse pour la même concentration acidimétrique que dans la soude. Cela provient de ce que le pH de ces solutions est moindre (presque la moitié) que dans les solutions moléculaires correspondantes de KOH et de NaOH.

Fig. 22. Spermatophore de *Pagurus arrosor* dans l'eau de chaux, montrant un petit orifice sous apical. G = 95.

Fig. 23. Après 20 minutes de séjour, fripement de la coque. G = 95.

Eau de chaux. L'eau de chaux concentrée, à pH 12,2 environ, produit peu d'éclatements. Ceux-ci se font par un orifice presqu'apical (fig. 22). Pour un même pH, cet alcali est moins actif que les bases monovalentes. Cependant, une solution diluée, à pH 8,2, provoque de plus nombreuses déhiscences, qui peuvent atteindre 100 % des appareils en 1 heure. Le gonflement du ruban est général ; mais, comme chez *Eupagurus*, c'est surtout la coque qui se dilate ; une fois distendue, elle se fripe après une vingtaine de minutes (fig. 23), Le ruban est dissous et les réservoirs libérés dans la solution concentrée.

Magnésie. A pH 8,2, l'eau de magnésie employée sur les appareils de *P. arrosor* ne produit pas de déhiscences, alors que, par ailleurs, ils s'ouvrent sous l'action des solutions de soude, de potasse, et de chaux à la même teneur alcaline (par exemple, 17 et 92 % d'ouvertures dans NaOH, 91 et 100 % dans KOH, 43 et 100 % dans $Ca(OH)^2$ et aucune dans $Mg(OH)^2$.)

Nos observations montrent qu'il y a un ralentissement net des éclatements sous l'influence des alcalis divalents (chez un même *P. arrosor* : 92 % d'ouvertures dans NaOH et KOH, 43 % dans $Ca(OH)^2$ et aucune dans $Mg(OH)^2$).

Actions successives des ions H^+ et OH^- sur les spermatophores.

Nous les avons étudiées seulement chez *Pagurus* et *Paguristes*. Elles y sont du même ordre dans ces deux genres : mais diffèrent un peu de ce qui a été observé sur les appareils d'*E. prideauxi*.

Modifications apportées par les acides à l'action consécutive de la soude. — Déhiscences. — Chez *Paguristes*, les appareils ne s'ouvrent pas dans la soude après l'acide chlorhydrique. Chez *Pagurus* on inhibe, en général, les déhiscences produites par NaOH ; mais parfois il éclate un pourcentage variable de spermatophores, à une vitesse ralentie. Il peut ainsi s'ouvrir en 1 heure, dans NaOH à N/100, jusqu'à 65 % des ampoules ayant séjourné dans HCl normal ou décinormal. Il en est de même après l'acide carbonique. Remis dans une solution acide les spermatophores demeurés réfractaires s'ouvrent à leur tour.

Gonflements. — A l'inverse de ce que l'on observe sur les appareils d'*E. prideauxi*, celui de *Paguristes* se rétracte dans l'alcali et son contenu devient plus finement granuleux (Pl. II, figs. 8 et 9). De même, dans la soude mise après l'acide, sur les spermatophores de *Pagurus*, il y a une rétraction assez forte des ampoules, qui s'atténue par la suite (Pl. II, figs. 10 et 11 et figs 24, 25). On observe exceptionnellement, chez *Pagurus*, que le réservoir se dilate un peu (NaOH N/100 mise après les acides acétique et sulfurique à N/100, voir tableau XI). Parfois,le contenu spermatique se contracte et s'écarte de la coque qui demeure gonflée.

Fig. 24. Spermatophore dans HCl N/100. G = 85.
Fig 25. L'acide a été remplacé par NaOH N/100. G.= 85.
Fig. 26. L'acide a été remis après la soude. G = 85.

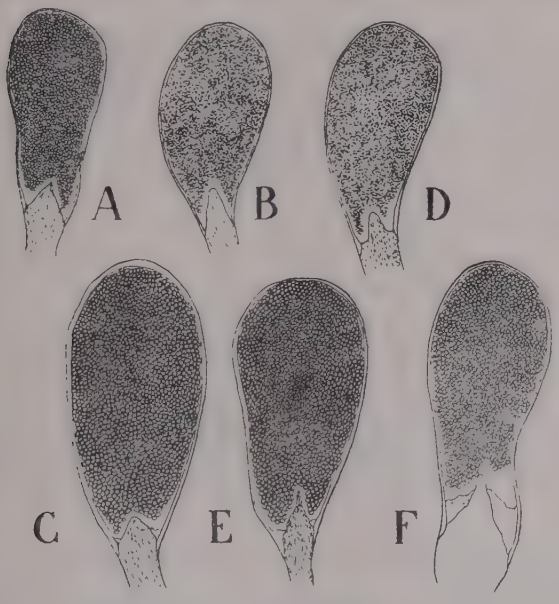


Fig. 27. Spermatophores de *Pagurus callidus*. G = 107. A. Dans la soude N/100 après SO_4H_2 normal. B. Action prolongée de NaOH renouvelée. C. Dans NaOH N/100 après NO_3H normal. D. Action prolongée de NaOH renouvelée. E. Dans NaOH N/100 après Hcl normal. F. NaOH renouvelée.

Si l'on remet de la soude fraîche, on note deux phénomènes différents : d'une part, une rétraction plus grande de l'ampoule, dont le contenu, irréversiblement coagulé adhère à la coque quand celle-ci est déchirée ; et, d'autre part, un nouveau gonflement du réservoir, comme on l'observe sur les appareils d'*E. prideauxi*. L'ampoule est, ici, restée dilatée et dilatable. Dans les deux cas, le reste du ruban est gonflé davantage par une nouvelle addition de soude. (figs. 27, A, B, C, D, E, F).

Après le gaz carbonique, la soude produit un grand gonflement de la coque, tandis que le contenu spermatique augmente peu (figs, 28-29).

Le retour à la solution acide détruit la contraction produite par la soude, chez les deux Pagurides. (fig. 26).

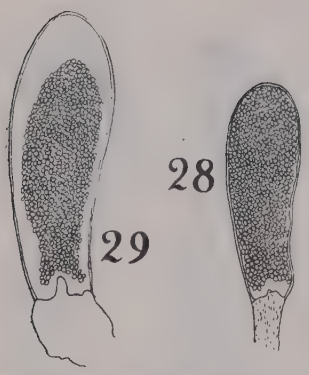


Fig. 28. Spermatophore de *P. arrosor* dans l'eau de Seltz G = 95.

Fig. 29. L'eau de Seltz a été remplacée par NaOH n/100. G = 95.

Modifications apportées par NaOH à l'action consécutive d'HCL. — A l'inverse de ce qui se passe chez *E. prideauxi*, les appareils de *Pagurus* continuent souvent d'éclater quand ils sont placés dans l'acide à N/100 après avoir été mis dans la soude à N/100. Même s'ils ne s'ouvrent pas, ils gonflent davantage que dans le milieu alcalin. Ce dernier cas se produit aussi pour les spermatophores de *Paguristes* où la coque surtout est dilatée. Le retour à la solution de soude produit une rétraction immédiate et l'arrêt des déhiscences ; elles reprennent à la remise dans un milieu acide. La déhiscence, quand elle a lieu, se fait donc surtout en milieu acide lorsque l'on passe de l'un à l'autre milieu. C'est là que se produit aussi le gonflement maximum des réservoirs.

Après une rétraction passagère, pendant le temps de la neutralisation des ions H^+ et OH^-, il s'établit un équilibre dans la solution acide ou basique, avec une augmentation de volume ampullaire plus grande en milieu acide qu'alcalin. Ces réactions sont en général réversibles dans le cas des acides, mais il finit par y avoir, dans la soude, une coagulation irréversible du contenu spermatique qui devient compact et adhérent à la coque des spermatophores.

2. *Rôle de la tension osmotique des solutions.*

Les différences de pression osmotique du milieu extérieur agissent à divers degrés sur la déhiscence des spermatophores des Pagurides que nous avons examinés.

Le comportement des appareils d'*E. anachoretus* soumis à l'eau de mer et à l'eau distillée, est comparable à celui des spermatophores d'*E. prideauxi*. Dans l'eau salée hypotonique à l'eau de mer, les résultats sont les mêmes que dans l'eau marine normale.

Les spermatophores des *Pagurus* sont moins nettement sensibles aux variations de la tension externe que ceux d'*Eupagurus*.

Dans l'eau de mer, le volume du contenu de l'ampoule n'est pas modifié : et, en règle générale, le réservoir y reste clos (Pl. II, figs. 12-13).

Dans le glucose en solution isotonique, on note un certain gonflement de l'ampoule tel que chez quelques exemplaires il se produit jusqu'à 35 % de déhiscences. Le contenu fuse par l'extrémité apicale et n'est pas coagulé. Dans le glucose hypertonique par rapport à l'eau de mer, les ampoules se contractent et leur contenu est irréversiblement coagulé par perte d'eau.

L'eau distillée, milieu hypotonique pour les spermatophores les fait gonfler

plus que la solution de glucose. Ce gonflement est produit, comme chez *E. prideauxi*, par la dévagination des spermatozoïdes qui n'a pas lieu dans le glucose. Le colloïde interne est aussi dilaté par imbibition d'eau, en même temps qu'il est coagulé. Dans la plupart des cas, l'augmentation de volume conduit à des éclatements qui atteignent 25 à 100 % des ampoules.

De même que les appareils de *Pagurus* s'ouvrent plus fréquemment dans l'eau de mer que ceux d'*Eupagurus*, on voit qu'ils résistent aussi moins que ces derniers dans la solution de glucose isotonique.

Chez *Clibanarius* et *Calcinus*, l'action de la pression osmotique sur les éclatements est très importante. Dans l'eau de mer, où la tension est élevée et où les sels agissent aussi, on n'observe pas de déhiscences.

Si on élimine l'influence des cations des sels par l'emploi du glucose isotonique avec l'eau de mer, on obtient, au contraire, les éclatements rapides (3 à 4 minutes) de toutes les ampoules. On peut confirmer l'action inhibitrice prépondérante des sels marins en faisant précéder l'action du glucose par celle de l'eau marine : aucune déhiscence ne se produit.

Dans l'eau distillée, tous les appareils des genres *Clibanarius* et *Calcinus* s'ouvrent rapidement (en général en 3 à 10 minutes, parfois en 20 minutes à 1 heure). Tout le ruban est très dilaté et allongé par imbibition d'eau.

Chez *Paguristes*, la tension osmotique des solutions ne joue aucun rôle net sur les spermatophores. Il n'y a aucun éclatement dans l'eau distillée qui gonfle seulement l'ampoule et coagule le contenu spermatique : tandis que l'eau de mer n'empêche pas quelques spermatophores de s'ouvrir chez certains exemplaires.

3. *Rôle des cations dans les solutions.*

L'action des cations des sels de l'eau de mer est constante sur tout les spermatophores de Pagures pour retarder ou empêcher leurs déhiscences. En règle générale, les productions spermatiques ne s'ouvrent pas dans le milieu marin. Chez quelques exemplaires de certaines espèces, cependant, il éclate un faible pourcentage d'appareils ; mais seulement au début de leur immersion. C'est surtout chez *E. anachoretus*, *Diogenes*, *Pagurus* et *Paguristes* que les spermatophores s'ouvrent ainsi et plus souvent que chez *E. prideauxi*. Par contre, chez *E. excavatus*, *Clibanarius* nous n'avons pas vu de déhiscences. Chez *Calcinus*, enfin, il s'en est produit seulement après plus de deux heures de séjour dans l'eau de mer.

Des coagulations interviennent qui rendent les embases et les voiles visqueux et adhésifs.

Action des chlorures alcalins et alcalino-terreux en solution isotonique avec l'eau de mer.

Nous avons essayé chez quelques espèces (*E. anachoretus*, *Pagurus*, *Clibanarius*),

de déterminer le rôle des cations des principaux sels marins, sur le comportement des spermatophores.

Employés en solutions chlorurées isotoniques avec l'eau de mer, soit seuls, soit mélangés deux à deux, ils ne provoquent pas d'éclatements, mais seulement le gonflement faible de la coque et la coagulation des mêmes parties que dans l'eau de mer. Le colloïde dans le réservoir reste liquide au début, comme *chez E. prideauxi*, mais il est coagulé après un certain temps de séjour, avec éclaircissement consécutif de la masse spermatique.

Effet relatif des cations sur le gonflement et les déhiscences produits dans la soude.

La soude n'a été employée dans l'eau de mer et après le passage des spermatophores dans les solutions salines, que sur les appareils des deux *Pagurus*. Utilisée de la même façon que sur les ampoules d'*E. prideauxi*, elle permet de déceler des différences dans le rôle des divers cations et leur antagonisme réciproque.

1° *Alcalinisation de la solution saline.*

Dans l'eau de mer alcalinisée par la soude ou l'ammoniaque jusqu'à pH 9, il n'y a aucun éclatement. Tout le ruban se comporte comme dans l'eau de mer normale.

2° *Action de la soude après le passage dans la solution saline.*

Application de la soude après l'eau de mer. — Le rôle freinateur des cations de l'eau de mer sur l'action des ions OH^- est variable. En général, rien n'éclate, mais dans certains cas, il s'ouvre jusqu'à 85 °/₀ des ampoules, mais jamais 100 °/₀, comme chez *E. prideauxi*. Ceci confirme la sensibilité moindre des spermatophores de *Pagurus* aux ions OH^-.

Application de la soude après l'action du glucose. — L'éclatement rapide dans la soude, des ampoules qui étaient restées fermées dans le glucose montre, ici aussi, que ce sont bien les sels de l'eau de mer qui retardent l'action des ions OH^- sur la déhiscence des appareils spermatiques.

Application de la soude après les chlorures alcalins et alcalino-terreux. — Les cations des 4 chlorures retardent les éclatements par NaOH à N/100. Leur effet particulier révèle une influence de la valence que l'on n'observait pas chez *Eupagurus*.

Chez des *Pagurus* dont les appareils, placés directement dans NaOH, éclataient en moins de 10 minutes, les ralentissements observés étaient les suivants : après KCl les déhiscences se produisaient en 25 minutes en général ; après NaCl, en 20 à 60 minutes, et parfois il restait jusqu'à 20 °/₀ des spermatophores non éclatés ; après $CaCl^2$ les éclatements n'atteignaient que 60 à 95 °/₀ des appareils et après $MgCl^2$ ils n'en atteignaient que 40 °/₀, en moyenne. Parfois ces deux chlorures empêchaient même

toute déhiscence. On voit que chez *Pagurus*, c'est $MgCl^2$ qui a l'influence freinatrice maximum.

Application de la soude après les mélanges deux à deux des chlorures alcalins et alcalino-terreux. — L'antagonisme entre les cations se manifeste quand on fait agir NaOH après les mélanges deux à deux des quatre chlorures. Les observations diffèrent quelque peu de ce qui se produit chez *E. prideauxi*.

$CaCl^2$ augmente l'action antagoniste des métaux alcalins sur les ions OH^-. Avec NaCl, il provoque le freinage maximum. Il ne modifie guère l'effet de $MgCl^2$; la moyenne des déhiscences avec les trois couples de sels varie entre 40 et 50 %.

Le blocage par $MgCl^2$ est diminué par chacun des cations alcalins. Avec NaCl tout se passe comme si ce sel était seul ; l'action de KCl est toutefois bien ralentie par $MgCl^2$ (78 % d'ouvertures, en moyenne, au lieu de 100 %).

Dans le mélange NaCl-KCl, il y a un certain retard dans l'action des deux cations opposés l'un à l'autre (en moyenne 79 % d'éclatements au lieu de 92 et 100 %).

En définitive, le freinage produit par les ions alcalins s'accroît quand le calcium pénètre simultanément dans les substances du spermatophore de *Pagurus* ; il reste, par contre, pratiquement inchangé lors de la pénétration du magnésium. Dans les mélanges de cations de même valence les effets sont à peu près semblables à ceux produits par chaque sel seul.

Action de la soude après l'eau de mer décalcifiée. — Le passage des spermatophores par l'eau de mer privée de Ca ne provoque pas d'arrêt complet des déhiscences comme le fait souvent l'eau de mer normale. Il éclate au moins 10 % des appareils, et en général 80 à 100 %. Les résultats sont moins probants que chez *E. prideauxi*, sans doute à cause de la forte action inhibitrice du magnésium restant, sur la déhiscence des ampoules de *Pagurus*.

La soude après le passage dans l'eau de chaux produit des résultats analogues à ceux que l'on observe chez *E. prideauxi*, et confirme toutes les données ci-dessus.

3° *Action de l'eau de mer et des chlorures alcalins et alcalino-terreux dilués.*

La recherche de l'action des cations sur les appareils de *Clibanarius* a été abordée d'une façon différente de celle employée pour les autres espèces, car le rôle de la soude seule n'était pas assez constant pour servir chez ce Pagure. (Après le passage dans l'eau de mer nous n'avons jamais vu d'éclatement dans NaOH).

Par ailleurs, les spermatophores qui s'ouvrent toujours dans l'eau distillée pouvaient être soumis à des solutions de concentrations salines décroissantes, ou à l'eau distillée pure, après un séjour dans l'eau salée.

Dans des solutions contenant 16, 10, 5, et 2 % d'eau de mer, il éclate tantôt toutes les ampoules, tantôt un petit nombre seulement, sans que le degré de dilution intervienne nettement.

Les chlorures alcalins et alcalino-terreux dilués à raison de 20 ou 30 % de solu-

tion isotonique, ne produisent pas d'éclatement. Ce n'est qu'à partir de la solution à 10 °/₀, qu'il y a des ouvertures. Dans les solutions à 5 et 2 °/₀ les déhiscences sont plus nombreuses. Le nombre des spermatophores qui éclatent est à peu près proportionnel à la dilution du sel à partir de la valeur maximum de 10 °/₀. La durée de toutes les déhiscences en présence d'un sel est toujours supérieure à celle prise par les témoins pour s'ouvrir dans l'eau pure.

Les pourcentages d'éclatements sont moindres dans les solutions de cations alcalino-terreux que dans celles des chlorures alcalins. C'est surtout net dans $CaCl^2$, où l'inhibition est maximum, à tous les taux de dilutions (tableau XVI).

TABLEAU XVI.

Pourcentage et vitesse des éclatements des spermatophores soumis aux chlorures isotoniques avec l'eau de mer dilués.

C. MISANTHROPUS

Concentration de la solution isotonique avec l'eau de mer	ClK	ClNa	Cl^2Mg	Cl^2Ca
100 %	0	0	0	0
50 %	0	0	0	0
20 %	0	0	0	0
10 %	35 %	10 % et 100 % en quelques minutes	0 91 % 10 %	0
5 %	95 %	81 %	33 %	5 %
2 %	100 % en 15 et en 30 min.	91 %	98 %	51 %
0 % (eau distillée)	100 % en 10'	100 % en 15'	100 % en 8'	100 % en 10'

Dans les chlorures mélangés, dilués dans les mêmes proportions, le nombre des éclatements varie également avec la concentration. Mais les chiffres obtenus révèlent l'antagonisme entre les ions, déjà décelé par l'action de la soude sur les spermatophores d'*Eupagurus* et de *Pagurus*. C'est dans le mélange $CaCl^2$-NaCl que se produit le plus grand retard aux ouvertures comme chez les précédents Pagures. L'ion Ca est antagoniste des autres cations et son rôle freinateur se trouve diminué par leur présence.

Ces résultats confirment que l'action de la pression osmotique est négligeable sur les déhiscences des ampoules de *Clibanarius*. En effet, à une même tension osmotique, les différents chlorures produisent des nombres très variables d'éclatements.

Nous avons pu aussi mettre en évidence sur les spermatophores d'*E. anachoretus* l'action de blocage de $CaCl^2$ à l'aide de solutions isotoniques diluées à 50, 10 et 2 % des quatre chlorures. A toutes les dilutions de NaCl, KCl, $MgCl^2$, il y avait quelques éclatements, alors que seule la solution à 2 % de $CaCl^2$ permettrait des déhiscences.

4° *Action de l'eau distillée après le passage dans la solution saline.*

Le passage des spermatophores de *Clibanarius* et de *Calcinus* par l'eau de mer empêche, en général, toute déhiscence ultérieure dans l'eau distillée, mais parfois une partie des réservoirs s'ouvre. L'allongement du ruban et le gonflement sont néanmoins normaux.

Nous avons vu que le séjour dans l'eau de mer inhibait aussi tout éclatement dans la solution isotonique de glucose. Il suffit même de placer le canal déférent dans le milieu marin pour retarder les ouvertures dans le milieu sucré, ou les bloquer tout à fait si le conduit génital reste 1 heure dans l'eau de mer.

4. *Action de solutions oxydantes.*

Nous n'avons recherché le rôle des oxydants que sur les spermatophores de *Pagurus*, en nous servant des mêmes solutions de MnO^4K et de ClONa que pour *E. prideauxi*. Les résultats sont presque les mêmes que chez cette dernière espèce.

L'eau oxygénée du codex ne provoque aucune déhiscence des appareils de *P. callidus*.

L'action consécutive de la soude à N/100 est aussi à peu près la même que chez *Eupagurus*. Cependant, le blocage produit par la solution de MnO^4K dans l'eau de mer est moins net chez certains *Pagurus* dont les appareils éclatent presque tous ensuite dans NaOH. Les gonflements ont lieu comme chez *E. prideauxi* après l'action des oxydants.

L'eau oxygénée arrête toute action de NaOH sur la déhiscence bien que la dilatation de tout le ruban reste normale.

5. *Rôle des substances réductrices.*

Nous avons employé l'acide sulfhydrique et le sulfhydrate d'ammonium sur les

spermatophores de *Pagurus* comme sur ceux d'*Eupagurus* ; mais nous avons recouru aussi à l'action réductrice du cyanure de potassium à 10 °/₀ dans l'eau pure. Sur les appareils de Paguristes nous n'avons utilisé que les vapeurs de $(NH^4)^2S$.

Actions de l'acide sulfhydrique et du sulfhydrate d'ammonium en solution.

Les résultats se superposent à ceux que fournissent les spermatophores d'*E. prideauxi* avec les solutions dans l'eau distillée ou marine. (tableau XVII).

TABLEAU XVII.

Durée des déhiscences dans l'eau de mer additionnée de sulfhydrate d'ammonium

Nombre de gouttes de solution concentrée ajoutée à l'eau de mer.	*P. arrosor* N° 18			*P. callidus* N° 10		
	Lot 1	Lot 2	Lot 3	Lot 1	Lot 2	Lot 3
1 goutte dans 20 cc.	33'			11'30"		
1 — — 10 cc.	11'	10'15"	8'30"	8'		
2 — — —	5'30"			2'15"	4'	
3 — — —	3'			50"	1'15"	2'
4 — — —	1'15"			1'10"		
5 — — —	1'45"	1'45"		1'		

En remplaçant l'eau de mer par la solution isotonique de $CaCl^2$ à laquelle on ajoute 2 gouttes de $(NH^4)^2S$ on obtient aussi les éclatements en 1 minute environ. La présence d'un sel de Ca à une concentration aussi forte ne modifie en rien l'action des sulfures.

Actions du gaz sulfhydrique et des vapeurs de sulfhydrate d'ammonium.

Le dégagement gazeux de $(NH^4)^2S$ a la même action sur les ampoules de *Pagurus* et de *Paguristes* placés dans l'eau de mer, que sur ceux d'*E. prideauxi*. Chez *Pagu-*

ristes il y a dissolution de la coque au sommet, se prolongeant ensuite vers le bas du réservoir. L'exposition aux vapeurs étant continue, toutes les ampoules s'ouvrent rapidement (1 à 5 minutes) (Pl. II, fig. 14).

Des spermatophores de *Pagurus* soumis à l'hydrogène sulfuré s'ouvrent après une longue exposition (30 minutes), mais n'éclatent pas tous en 1 heure.

En combinant l'action des gaz ammoniac et sulfhydrique, le résultat n'est pas accéléré. L'action successive des vapeurs d'ammoniac et d'H^2S ne provoque pas d'éclatement dans l'eau de mer à cause du précipité de sels alcalino-terreux formé à la surface de la goutte ; il s'en produit si les spermatophores sont mis dans une solution isotonique de NaCl (tout éclate en 25 minutes).

Le cyanure de potassium produit toutes les déhiscences en 9 minutes. De même que pour l'action des réducteurs sulfurés, l'imprégnation préalable par les sels de l'eau de mer ne change pas la vitesse des éclatements dans le cyanure de potassium.

Les modifications des substances du spermatophore, dilatation et ramollissement, déjà notés chez *E. prideauxi*, se produisent aussi ici, dûs aux causes que nous avons tenté d'expliquer p. (51).

6. *Action des ferments digestifs.*

Le rôle des enzymes n'a été étudié que sur les appareils de *Pagurus* et de *Paguristes*, à l'exception d'une expérience faite sur ceux de *Clibanarius*.

Nous avons utilisé sur les productions de *Pagurus* toutes les diastases de Vertébrés et d'Invertébrés qui ont servi pour les spermatophores d'*E. prideauxi* et seulement quelques unes des solutions sur le ruban spermatique de *Paguristes*.

Diastases d'Invertébrés.

En plus des macérations d'organes digestifs de l'espèce, que nous avons toujours employés, nous avons fait agir sur les appareils de *P. arrosor* des extraits d'organes d'*E. prideauxi*, d'*Helix aspersa* et du Céphalopode *Eledone cirrhosa*.

Action des diastases stomacales. — Les macérations dans l'eau de mer ou l'eau distillée de l'estomac de l'espèce ou d'*E. prideauxi* (pH 6,8 — 7,2) produisent le plus souvent les ouvertures de tous les appareils en 3 à 16 minutes chez *Pagurus* ; parfois il n'éclate rien, ou seulement une partie des ampoules. Chez *Clibanarius* tous les réservoirs s'ouvrent ; ceux de *Paguristes*, par contre, restent intacts.

Les macérations d'estomac d'*E. cirrhosa*, à pH 6,3 et de tube digestif d'*Helix*, à pH 5,3, dans l'eau pure, n'agissent pas, bien qu'au bout de 18 heures la zone de suture et le ruban de *Pagurus* soient partiellement digérés dans cette dernière.

Le ferment intestinal de l'espèce produit, chez ce Pagure, des éclatements ralentis, débutant après 10 minutes de séjour.

Action des diastases hépatopancréatiques. — L'organe de l'espèce, macéré dans l'eau pure ou marine, produit, chez *Pagurus*, des déhiscences irrégulières ; parfois

nulles, elles atteignent aussi 100 °/₀ en 10 minutes. Le pH que nous avons fait varier entre 6,0 et 8,0 ne joue aucun rôle sur le nombre observé.

L'action sur les productions de *Paguristes* n'est effective qu'avec des solutions dans l'eau distillée et variable selon les individus. Les déhiscences commencent au bout d'1/4 d'heure. Il y a attaque de la suture au haut de l'ampoule et le contenu sort coagulé.

L'extrait d'hépatopancréas d'*Eledone*, à pH 6, donne des déhiscences des ampoules de *P. arrosor* ; à pH 8, celles-ci atteignent 33 °/₀ des appareils, mais elles se font dans la dernière demi-heure de l'expérience.

Action consécutive de la soude. — Les ampoules réfractaires dans les solutions digestives éclatent moins vite que les témoins dans la soude appliquée ensuite.

Diastases de Vertébrés.

Solutions enzymatiques dans l'eau distillée et l'eau marine. — La pepsine du commerce, dans l'eau pure, est active surtout à pH 2. Elle provoque les éclatements des ampoules de *Pagurus* en paquets dissociés, en 8 minutes et hydrolyse le ruban en 3 jours.

Chez *Paguristes*, elle ne produit pas d'éclatement, mais hydrolyse les voiles.

A des pH supérieurs, c'est plutôt la concentration en ions H que le ferment digestif qui intervient chez *Pagurus* : il éclate la plus grande partie des ampoules à pH 7 et rien aux environs de pH 5.

Dans l'eau de mer, à pH 7,1, la pepsine ne produit de déhiscence chez aucune des deux espèces.

Les solutions de trypsine à pH 6,7, et 6,5, et environ 5, produisent les déhiscences en 10 à 35 minutes. Les contenus sortent en fusées ou en paquets. Le mélange trypsine-bile, selon DE WAELE, fait tout éclater en 10 minutes et digère les coques, les voiles et les masses spermatiques en 6 heures et les pédicules et embases en 3 jours.

Chez *Paguristes* la trypsine est inactive, à pH 8.

Les solutions de peptone pepsique ne produisent pas l'ouverture des spermatophores de *Pagurus*, à l'exception de quelques éclatements au début des expériences.

Effets des diastases du commerce sur l'action de NaOH à $N/100$. — Les solutions enzymatiques ralentissent beaucoup les déhiscences par NaOH et réduisent souvent leur nombre. En général il éclate de 30 à 100 °/₀ des ampoules réfractaires dans le milieu digestif. Le ruban est très gonflé et éclairci et la coque plus dilatée que le contenu spermatique.

7. *Action des produits de macération des organes génitaux femelles dans l'eau de mer.*

Les tentatives faites pour obtenir des ouvertures par l'action des macérations d'organes génitaux femelles sur les seuls spermatophores de *Pagurus* et de *Paguristes* sont demeurées aussi inefficaces que sur ceux d'*Eupagurus*.

2) Les mécanismes de la déhiscence expérimentale des spermatophores.

La région sensible de la suture de tous les spermatophores de Pagurides est située au sommet des réservoirs. C'est là que se produisent les ouvertures par simple dissolution du ciment. On trouve à cet endroit, chez certains genres (*Pagurus*, *Clibanarius*, *Calcinus*), le bourrelet hyalin déjà décrit chez *Eupagurus* et qui disparaît dans la plupart des milieux d'expérience.

Les deux mécanismes qui agissent sur les appareils d'*E. prideauxi* et qui sont l'augmentation de la pression interne et la dissolution de la suture, interviennent toujours pour faire s'ouvrir les ampoules spermatiques.

Selon les milieux et suivant les Pagures, l'un ou l'autre facteur domine souvent. Par exemple, pour les appareils de *Paguristes* l'augmentation de pression joue un rôle négligeable dans la déhiscence qui est déterminée principalement par l'attaque de la suture, quel que soit l'agent employé. C'est ainsi que la distension maximum des réservoirs dans HCl à N/100 ne produit pas d'éclatement, car la suture n'est pas attaquée.

Les ampoules de *Pagurus* s'ouvrent latéralement lorsque les deux facteurs sont combinés, comme c'est le cas dans l'action de NaOH. La fente débute, comme chez *E. prideauxi*, au bas du bourrelet sutural, puis s'étend en dessus et en dessous.

Chez les *Diogenes*, les *Clibanarius* et *Calcinus* l'ouverture commence au sommet de l'ampoule et s'agrandit de chaque côté lorsque les deux mécanismes de déhiscences entrent en jeu.

3) La déhiscence naturelle des spermatophores.

L'ouverture des réservoirs déposés sur les femelles, après l'accouplement, n'a été observée chez aucun Paguride. Cependant, nous rapprocherons de la déhiscence naturelle, comme nous l'avons fait pour *Eupagurus*, les éclatements qui se produisent spontanément au contact de l'eau de mer. Dans chaque espèce, sauf *C. misanthropus*, nous avons trouvé des individus dont un certain pourcentage d'appareils était sensible à cette action, alors que tous les autres demeuraient réfractaires. Nous pensons qu'il s'agit, pour ces espèces comme pour *E. prideauxi*, d'une maturation ayant atteint certaines ampoules.

Les cas de déhiscences *in vitro* dans l'eau de mer sont plus fréquents chez *Pagurus* (surtout *P. callidus*), *Diogenes* et *E. anachoretus* que chez *E. prideauxi*.

Nous n'avons pas observé, dans la plupart des espèces étudiées ici, de femelles immatures portant des spermatophores collés sous leur abdomen, si ce n'est chez *Diogenes*, où l'on en trouve souvent, comme F. Bloch l'a signalé. Nous avons vu beaucoup de ces femelles avec des réservoirs ouverts et vides. Il nous a même été donné de voir un mâle portant des appareils spermatiques sur les soies de ses appendices, et

tous éclatés et vidés. Il est donc possible que les spermatozoïdes soient libérés en dehors de toute intervention d'une substance sécrétée par la femelle au moment de la ponte.

En définitive, on peut conclure, comme pour *E. Prideauxi*, en ce qui concerne la déhiscence naturelle des spermatophores : 1° que chez les divers Pagurides examinés, les ampoules s'ouvrent par l'extrémité apicale et laissent fuser les spermatozoïdes sous l'effet de la pression intérieure ; 2° que chez toutes les espèces, à l'exception de *Clibanarius* où cela n'a pas été observé, des spermatophores de certains mâles peuvent se vider dans l'eau de mer, par l'ouverture apicale, indépendamment de l'action d'une sécrétion femelle ; 3° que chez *Diogenes* l'émission des réservoirs spermatiques peut se faire sans contact avec une femelle mûre. Elle a lieu sur des femelles immatures, et parfois sur les mâles eux-mêmes.

CHAPITRE IV.

Histophysiologie du canal déférent d'E. prideauxi.

INTRODUCTION.

Les substances anhistes qui constituent les spermatophores des Pagurides sont élaborées entièrement dans les voies déférentes des mâles. Il n'y a pas de glande annexe qui vienne joindre sa sécrétion à celle du conduit même. Les différents produits constituant l'appareil spermatique ont pour origine des segments plus ou moins distincts qui se succèdent le long de la glande tubulaire constituée par le canal sexuel. Les deux canaux déférents d'un même individu de l'espèce qui nous intéresse ici sont symétriques et fournissent des spermatophores identiques.

L'étude histologique élémentaire de l'appareil génital d'*E. prideauxi* a déjà été faite par S. MOUCHET, et par elle seule. Nous l'avons reprise d'un point de vue un peu différent, pour essayer de déterminer l'origine intracellulaire des composants du spermatophore. S. MOUCHET examine principalement la topographie des différentes régions, dont la paroi présente deux assises, musculaire et glandulaire. Nous indiquerons les résultats et l'interprétation de son examen de l'assise glandulaire seule, à la fois chez *Eupagurus bernhardus* et *E. prideauxi*. Il n'y a pas de divergence appréciable de structure, tout au moins entre les portions proximales des canaux déférents de ces deux *Eupagurus*. Nous avons rencontré dans son étude quelques observations qui ne concordent pas avec les nôtres, différences que nous relèverons en passant.

Pour préciser les divergences de nos points de vue, voici, d'une part, les techniques employées par l'auteur précité, et, d'autre part, celles qui nous ont servi. Après leur exposé, nous mettrons en parallèle les résultats obtenus par elle et par nous.

Méthodes utilisées.

S. Mouchet a fixé ses pièces dans les liquides de Bouin, de Flemming, de Regaud et de Zenker. Elle a coloré ses coupes à l'hématoxyline ferrique, à l'hémalun-éosine-aurantia-bleu, à la safranine-vert lumière ou au picro-indigo-carmin et par les méthodes combinées de Millot (Hémalun-fuchsine acide-jaune de métanile-vert lumière), de Hollande et de Mallory.

Nous avons recouru à peu près aux mêmes techniques générales. Parmi les fixateurs usuels nous avons donné la préférence au Bouin alcoolique de Duboscq-Brasil, puis au mélange de Zenker. Le liquide de Schaudinn ne nous a pas fourni de résultats pleinement satisfaisants.

Pour les recherches cytologiques plus spéciales, nous avons utilisé les fixateurs du chondriome à base de bichromate de potasse selon les formules de Helly et de Regaud, suivis d'une post-chromisation selon Dietrich-Parat pendant 12, 36 ou 48 heures, et suivant la méthode de Kruszinski (1931) en post-chromant pendant six jours ; les mélanges à l'acide osmique de Champy et de Benoit, B.O.S.U. (selon la formule ordinaire de l'auteur et d'après la variante donnée par Filhol (1938)) ; le Flemming fort, sans acide acétique.

Nous avons fait des imprégnations osmiques pour révéler l'appareil de Golgi, en suivant la technique de Mann-Kopsch, avec une durée d'imprégnation de 6 jours ; la méthode de Kolatchev-Nassonov (in Filhol, 1938) a été également pratiquée, en imprégnant 6 jours, durée qui s'est révélée insuffisante, à cause de la plus faible teneur en acide osmique de cette formule ; aussi les résultats ont-ils été très inférieurs à ceux que donne le Mann-Kopsch.

Les méthodes d'imprégnations argentiques, selon Da Fano et Cajal, n'ont rien donné de satisfaisant, bien que les résultats aient été positifs dans certaines coupes. Sur notre matériel, elles sont très inférieures aux imprégnations osmiques. Nous n'avons pas pu contrôler sur du nouveau matériel, si cela provenait d'une exécution défectueuse.

La détection des lipides a été faite après fixation au formol neutralisé à 10 % dans l'eau de mer, pendant 48 heures.

Nous avons fixé des canaux déférents au sublimé acétique en vue de l'étude du noyau par la réaction nucléale de Feulgen, effectuée suivant les indications données par Lison (1936, p. 178).

Les pièces, inclues à la paraffine, ont été débitées en coupes de 5 à 8 μ en général. Les colorations pratiquées ensuite ont été faites selon les techniques les plus diverses ; leurs résultats se sont montrés souvent très inconstants.

Parmi les méthodes générales, nous avons employé, d'une part, celles dont l'hématoxyline ferrique forme le colorant nucléaire (hématoxyline-éosine, triples colorations de PRENANT, de MASSON) après les fixations au BOUIN-DUBOSCQ-BRASIL, au ZENKER et au FLEMMING ; d'autre part, et après les mêmes fixateurs, les techniques utilisant des colorations nucléaires diverses, telles que l'hématoxyline phosphotungstique de MALLORY, le glychémalun-éosine, le GRAM, le MANN, le GIEMSA, le bleu polychrome, les triples colorations de MALLORY, de MILLOT, au mucicarmin de MAYER (selon MASSON).

Après les fixateurs mitochondriaux, nous avons fait usage des colorations à la fuchsine acide d'ALTMANN, différenciée soit par l'acide picrique, soit, surtout, par le vert de méthyle, selon BENSLEY-COWDRY, ou par l'aurantia, selon CHAMPY-KULL. Nous avons également essayé les techniques de VOLKONSKY et de BENDA, mais avec des résultats irréguliers, souvent médiocres.

Après la fixation au liquide de REGAUD, l'hématoxyline ferrique a été employée, selon l'auteur, pour colorer le chondriome.

La recherche des lipides a été pratiquée après fixation au formol, au REGAUD, au HELLY ou au B. O. S. U., en traitant les coupes soit par le soudan III, le noir soudane ou le bleu B Z L, pendant 24 heures, dans les solutions préparées d'après LISON (1936, p. 195). Des coupes à la congélation ont aussi été faites après fixation au formol et sur le frais, pour effectuer les colorations lipidiques. Elles n'ont rien montré de plus que les coupes à la paraffine.

La réaction nucléale de FEULGEN a été suivie par une coloration plasmatique au vert lumière, à l'éosine ou à l'éosine-aurantia ; ces derniers, utilisés en solutions aqueuses mélangées, nous ont donné les renseignements les plus intéressants.

La recherche de la localisation du glutathion a été faite sur des coupes à la congélation du canal frais. Elle n'a rien montré de précis, mais seulement une teinte uniforme, de faible intensité, révélant cependant la présence de ce tripeptide, rapidement diffusible, mais non sur des organites définis dans le cytoplasme. La stabilisation de la réaction au nitroprussiate pratiquée par GIROUD et BULLIARD (1934) au moyen de l'acétate de zinc à 5 %, ne nous a pas fourni de meilleur résultat.

Enfin, la réaction de MILLON a été faite sur quelques lames de coupes à la paraffine, après fixation au formol à 10 %, au HELLY et au B.O.S.U., mais elle n'a donné qu'une coloration générale diffuse, très faible, sans teinter plus spécialement telle enclave cellulaire. Seuls le mucus et l'embase déjà formés présentent nettement la réaction positive après les deux premiers fixateurs ; après le troisième l'embase, qui a un peu réduit l'acide osmique, ne se colore pas distinctement. La recherche d'autres groupements phénoliques par la réaction chromaffine (traitement pendant 12 heures par le bichromate ou l'iodate de potasse à 3 %) ne montre aucune oxydation au niveau de la paroi cellulaire du canal.

Topographie du conduit, formation et modelage des spermatophores

Nous examinerons l'élaboration des constituants du spermatophore dans l'ordre où ils se forment le long du canal sexuel du Pagure. Il sera plus aisé de comprendre la succession des différentes zones sécrétrices après avoir rappelé succinctement la morphologie et les mécanismes de la formation des appareils spermatiques minutieusement décrits par Mouchet. A cette fin, le conduit génital sera divisé arbitrairement en plusieurs tronçons à partir de la glande reproductrice.

Le testicule est formé d'un long tube évacuateur commun, le long duquel sont appendus, sans ordre, les follicules générateurs de gamètes (Bloch). Chaque gonade est ainsi disposée en un long cordon replié en paquet, dont les boucles sont reliées entre elles par une membrane épithélio-conjonctive. Les canaux déférents les prolongent, enroulés en spirale en certains endroits (fig. 30). Ceux-ci développent une assise interne glandulaire, tandis que leur assise externe acquiert des fibres musculaires et une cuticule épaisse.

Fig. 30. Schéma du canal déférent d'*E. prideauxi* montrant la succession des segments où s'élabore le spermatophore : I..... VI. t = testicule ; o = orifice génital.

La *zone I* (fig. 31) est constituée par un tube dont la lumière de contour irrégulier a environ 150 μ de diamètre. C'est lui qui fournit le mucus s'ajoutant à celui, d'origine testiculaire, dans lequel baignent déjà les spermatozoïdes. La partie suivante se rétrécit progressivement, jusqu'à n'avoir plus que 50 μ de diamètre externe ; sa paroi d'abord amincie devient de nouveau plus épaisse. S. Mouchet ne considère comme sécrétrice que la portion étroite du canal où circulent les spermies libres, entourées de leur mucus ; elle lui attribue l'émission de cette matière incolore « intimement mélangée aux spermatozoïdes », qu'elle trouve également sécrétée par les cellules cubiques de la première région spiralée où se forme, en réalité, le ciment sutural. Notons aussi que la figure 105 donnée par l'auteur comme correspondant à cette région du conduit d'*E. prideauxi*, montre, en fait, une coupe beaucoup plus bas, à ceci près que le contenu du canal n'a pas été figuré par elle.

Fig. 31. Canal à la sortie du testicule. G = 120.

La *deuxième zone* est formée par le conduit, élargi assez brusquement et enroulé en une spirale plane de 3 tours de spires (MOUCHET). Elle forme, en général, un coude avec la région précédente. Sa section atteint 90 à 100 μ de largeur à l'endroit où débute la sécrétion de la coque, par son ciment sutural. Parfois celui-ci apparaît avant le coude dans le conduit. Sur ce trajet spiralé, le diamètre atteint en moyenne 350 à 400 μ ; la coque et le pied des futurs appareils s'y constituent entièrement.

Une sécrétion en deux temps aux dépens d'une même substance correspond aux deux parties de la coque : les valves, d'une part et le ciment de la suture qui les relie, d'autre part.

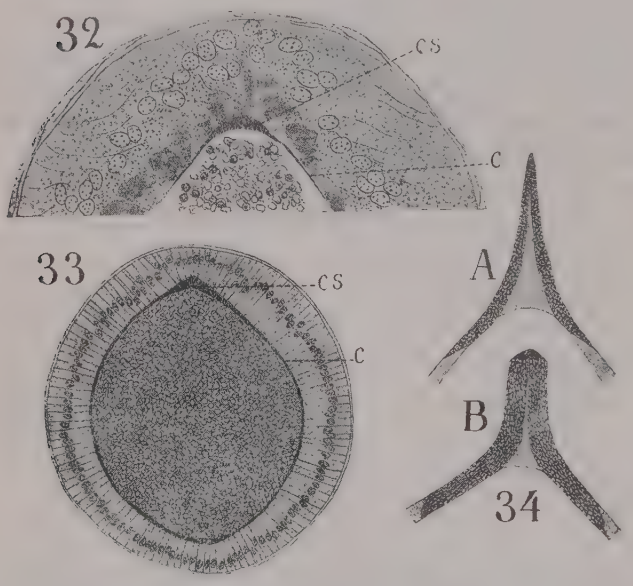


Fig. 32. Fixation MANN-KOPSCH. Région où se forme le ciment sutural = *cs* prolongé par le début de la coque = *c*. G = 263.

Fig. 33. Coupe semi-schématique montrant la coque entièrement formée autour du boyau spermatique. Lettres comme ci-dessus. G = 120.

Fig. 34. Fixation MANN-KOPSCH. G = 590. A. Détail de la suture pendant l'épaississement de la coque. B. Suture constituée dans la dernière partie de la première spirale correspondant à la figure 36.

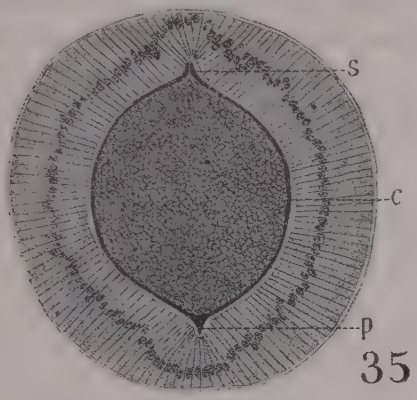
Dans le premier temps, le ciment sutural est déversé le long d'une légère dépression de la génératrice externe du canal spiralé, qui est seule fonctionnelle à ce niveau. Le produit s'accumule en une lame courbe, plus épaisse en son milieu (fig. 32). La sécrétion s'amorce ensuite au côté opposé du canal, puis progresse de chaque côté jusqu'à ce que la masse des spermies soit complètement entourée par un boyau homogène mince et fluide, un peu plus épais le long des deux génératrices vis à vis l'une de l'autre (fig. 33).

Dans le deuxième temps, la coque continue de s'épaissir par un apport de substance qui se soude et se confond avec la couche précédemment émise. Aux abords de la suture, le second apport est modifié par l'inclusion de granules plus réducteurs, qui se fusionneront plus ou moins, en prenant un aspect réticulé (fig, 34, A et B.). Ayant ainsi acquis une nouvelle texture cette matière ne s'incorpore plus à la précédente et donne une couche distincte, appliquée sur la première et la recouvrant entièrement.

S. MOUCHET n'a pas vu la formation de la substance suturale qui précède celle de la coque. Elle a seulement montré qu'il se formait, entre deux points opposés du canal, des gouttières au bord desquelles les cellules disparaissaient presque complè-

tement, et que, dans la lumière du conduit devenu elliptique, la matière de la coque, à affinité très basique, s'accumulait en ces deux points.

Effectivement, nous voyons se former, plus loin dans le deuxième tour de spire, une autre gouttière, à l'opposé de celle de la suture, où s'accumule la même substance que la coque (fig. 35). Au troisième tour de la spirale, une rainure profonde s'est produite, où se trouve logé le prolongement lamellaire qui constitue le pied de l'appareil. Le diamètre du cordon spermatique a déjà fort diminué à ce niveau (fig. 36).



35

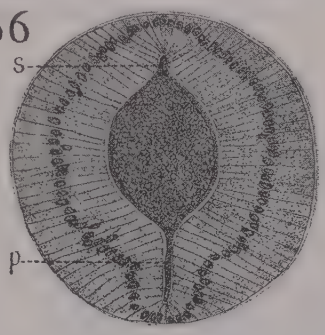


Fig. 35. Coupe semi-schématique montrant le début de la formation du pied = *p* et la suture = *s* ; c = coque. G = 120.

Fig. 36. Coupe semi-schématique montrant l'allongement du pied et l'amincissement du boyau spermatique. Lettres comme ci-dessus. G = 120.

La *troisième zone* est une partie rectiligne qui s'intercale entre les deux régions spiralées du conduit génital. Elle est progressivement amincie jusqu'à n'avoir plus que 140 μ de diamètre externe dans sa partie médiane. La formation du pied s'achève au début de ce segment. C'est également la région où les ondes de contraction de la paroi musculaire déterminent la fragmentation du ruban spermatique en tronçons successifs qui fourniront les ampoules. Entre elles, des parties très rétrécies du boyau constitueront, autour de quelques spermies, les *réservoirs accessoires* attenants à chaque spermatophore (fig. 37) MOUCHET a bien indiqué les différentes étapes de ce modelage pendant lequel s'individualisent les appareils.

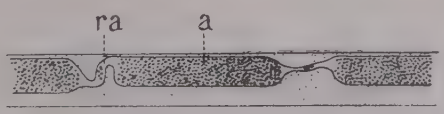


Fig. 37. Schéma de la fragmentation du boyau spermatique en ampoules (*a*) reliées par les réservoirs accessoires (*ra*) (d'après MOUCHET).

Dans le segment suivant se constitue la *plaque basale*, perpendiculaire au pied.

Elle est formée par l'étalement de la substance du pied et la sécrétion de la paroi à ce niveau. Pendant que la plaque basale s'accroît encore, il se creuse peu à peu une dépression autour d'elle qui sera la *gouttière de l'embase*. Dans certains conduits déférents de Pagures de taille moyenne, la sécrétion de l'*embase* commence au bas du pied avant qu'une plaque basale ne soit nettement formée. Mais chez les gros individus, c'est dans la dernière portion du canal rectiligne, dont le diamètre s'agrandit de nouveau, que l'embase apparaît, comme un ruban continu de substance spéciale où s'enfonce la plaque basale. Au même endroit, les ampoules commencent à s'étirer perpendiculairement à leur axe longitudinal, raccourci de ce fait. La partie de la coque prolongée par le pied se rétracte, tandis que le reste se distend progressivement. L'allongement est maximum à l'opposé du pied, le long de la ligne suturale ; c'est pourquoi elle s'amincit notablement au cours du modelage du spermatophore.

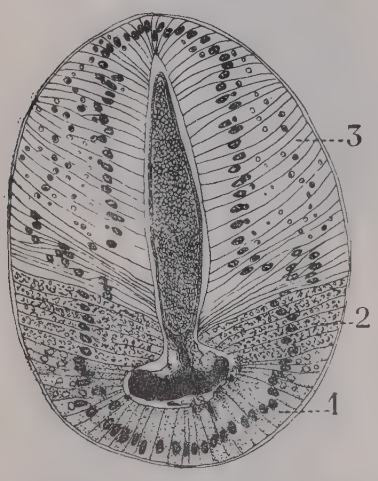


Fig. 38. Coupe semi-schématique de la 2e spirale et avant, montrant les troi zones cellulaires différentes : 1, 2, 3. G = 120.

L'assise glandulaire qui tapisse le conduit apparaît différenciée histologiquement en trois régions nettes, observées chez *E. prideauxi* et *E. bernhardus* par MOUCHET (fig. 38). Nous les examinerons en détail plus loin.

La *quatrième zone* comprend une deuxième spirale à enroulement sinusoïdal de trois tours de spire, inverse de la première région spiralée, Sa section, elliptique a des diamètres très agrandis, presque constants sur toute sa longueur, (ils atteignent, en moyenne, respectivement 380 μ et 510 μ). C'est la partie la plus épaisse de tout le conduit. Vers la fin de la zone, la largeur décroît jusqu'à 350 μ environ chez un individu moyen.

L'embase continue d'être formée et moulée en un ruban minterrompu dans la gouttière, tandis que, dans la lumière elliptique du conduit, les ampoules dressées s'allongent encore et acquièrent leur forme conique définitive.

La *cinquième zone* est constituée par un tube rectiligne d'environ 320 μ de diamètre, sensiblement le même sur tout son parcours et comprenant presque la moitié de la longueur du conduit sexuel. Il y est pelotonné dans le corps de Pagure, mais peut être étalé facilement. La fragmentation de l'embase en tronçons correspondant à chaque spermatophore se poursuit ; puis les appareils ainsi séparés circulent, couchés horizontalement les uns derrière les autres, en se chevauchant plus ou moins. La paroi, plus mince, ne fournit plus que du mucus qui permet sans doute, aux coques d'acquérir leur rigidité pendant ce trajet.

La *sixième zone* comprend le dernier segment du canal, terminé par l'orifice géni-

tal. Le conduit s'élargit jusqu'à 800 ou 900 μ. Il fournit une première région sécrétrice, dont la paroi est différenciée d'un côté en une sorte de typhlosolis glandulaire. Toutes les cellules élaborent du mucus. Les productions spermatiques redressées verticalement, commencent à se tasser dans la cavité du conduit, les embases du même côté. Dans le réservoir proprement dit, au bout du canal déférent, la paroi interne est réduite à un simple épithélium. Les spermatophores, mis en réserve à l'intérieur sont disposés circulairement par couches successives, leur embase appliquée contre la paroi et leur pointe dirigée vers l'axe du conduit où s'accumule le mucus émis. Les appareils spermatiques sont alors prêts à être expulsés.

Histologie et cytologie du canal déférent.

Zone I. — La paroi interne du canal à la sortie du testicule est peu élevée. Cette assise syncytiale est riche en noyaux assez petits et très serrés, qui grossissent peu à peu, en même temps que le protoplasme devient très abondant et prend un aspect feuilleté parallèlement à la paroi (fig. 39). Dans le conduit aminci, qui succède, les noyaux moins nombreux, tendent à se localiser sur un même niveau ; le cytoplasme oriente peu à peu ses fibres perpendiculairement à sa paroi, mais ne paraît pas contenir d'inclusions. Puis, quelques coupes plus bas, les éléments pariétaux, un peu plus nombreux, s'épaississent, sans que le diamètre du conduit augmente. Dans cette région étroite la lumière se trouve à peu près oblitérée et les spermies circulent presque les unes derrière les autres ; les noyaux de la paroi, gros et vésiculeux, sont abondants et disposés sans ordre visible. Chacun d'eux contient un gros nucléole qui s'imprègne un peu par l'acide osmique et se colore ensuite par la fuchsine. Le cytoplasme est assez réducteur : les membranes cellulaires sont nettes. De nombreux grains mitochondriaux sphériques, de tailles inégales, se trouvent dans le cytoplasme, soit répartis uniformément, soit localisés surtout au voisinage des noyaux ou parfois à proximité de la lumière. Le cytoplasme juxtapariétal est très fibrillaire. Les imprégnations osmiques révèlent des inclusions sphériques faiblement réductrices qui ne sont pas décelées par l'argent. L'imprégnation argentique, selon Cajal, rend visibles d'abondantes granulations fines disséminées dans toute la cellule. On s'oriente progressivement vers l'organisation d'un épithélium à hautes cellules perpendiculaires à la paroi, dont tous les noyaux forment une couche régulière au voisinage de la basale et dont la sécrétion paraît se faire uniquement par la petite face libre des cellules tournées vers le canal. Cette structure ne sera réalisée complètement qu'au moment où le canal s'élargira de nouveau, soit progressivement, soit brusquement, suivant les individus.

Fig. 39. Section du canal de la première zone. G = 590.

Pendant l'accroissement du diamètre du conduit, (provenant de la multiplica-

tion des cellules), le cytoplasme se charge de nombreuses mitochondries, groupées parfois en amas serrés, ou s'alignant plus ou moins pour former de courts chapelets plus ou moins réducteurs. Les sphérules peu réductrices rencontrées antérieurement persistent encore à ce niveau.

Zone II. — Nous avons vu, plus haut, que cette région s'étendait sur les trois tours de la première spirale. Dans l'ensemble, la structure du canal est du même type glandulaire sur toute la longueur de ce segment. Néanmoins nous le diviserons en trois parties suivant la destinée de la sécrétion.

1° la région élaboratrice du ciment de la suture ;

2° la région élaboratrice de la coque ;

3° la région élaboratrice du pied.

1° *Région élaboratrice du ciment de la suture.* — Elle est située au voisinage du début de la première spirale. La paroi est à ce niveau tapissée d'éléments prismatiques étroits, mais pas très allongés. Les noyaux, situés vers le tiers basal des cellules sont très rapprochés les uns des autres. Une section faite à cet endroit est légèrement ovoïde et montre, au pôle où commence la sécrétion, des éléments dont le cytoplasme est plus chromatique que celui des cellules latérales. Cette différence est mise en évidence par les imprégnations osmiques, les colorations mitochondriales, l'hématoxyline ferrique, etc. Le protoplasme contient un fin chondriome, accumulé principalement au bord de la lumière du conduit. Vers l'intérieur les mitochondries sont plus clairsemées et se réunissent pour former des chondriomites dans la région infranucléaire. Dans les parties supranucléaires, d'autres formations, plus volumineuses et épaisses, paraissent constituées par les mêmes granules, groupés en petits cercles autour d'une aire plus claire, ou bien alignés en courts batonnets, droits ou arqués. Ces inclusions sont présentes jusqu'à la paroi externe du canal, mais moins nombreuses et moins réductrices en profondeur.

Sur le reste du pourtour du conduit, les noyaux sont remontés vers le milieu des cellules : le chondriome est nettement localisé au bord cavitaire. Les inclusions plus grandes, décrites ci-dessus, se trouvent plus nettes mais seulement dans la moitié supranucléaire des éléments. Elles ont un aspect de dictyosomes, avec deux substances chromophile et chromophobe. Ceci est rendu visible non seulement par l'acide osmique et l'hématoxyline, mais aussi par la fuchsine d'Altmann et le violet de Benda. En somme, ces éléments ont des affinités chondriosomiennes et de plus, réduisent fortement l'acide osmique et le nitrate d'argent. On voit, comme dans la région précédente, des sphérules infranucléaires, faiblement osmio-réductrices, colorables par l'hématoxyline et par la fuchsine. Elles paraissent être de même nature, mais plus petites que les formations parasomiques que nous trouverons plus loin. Il se forme enfin, dans quelques cellules, des traînées cytoplasmiques fuchsinophiles, sidérophiles et réduisant l'acide osmique.

2° *Région élaboratrice de la coque.* — Par transition insensible on passe à la région qui élabore la coque. Les éléments de la paroi s'allongent un peu au début, puis davantage à mesure que la coque s'épaissit, (comparer les figures 33 et 36). Le noyau est encore placé dans la partie moyenne du corps cellulaire, mais il se rapproche de la basale, au pôle sutural et à l'opposé également.

La structure cellulaire est la même que celle du niveau précédent, mais plus précise. Les mitochondries granuleuses sont seulement présentes sur les bords des deux encoches diamétralement opposées du canal. Elles manquent souvent dans les cellules latérales, sauf contre la paroi externe où elles sont nombreuses dans du cytoplasme chromatique. Les diverses techniques montrent sous différents aspects les inclusions du protoplasme.

L'imprégnation par l'acide osmique suivant MANN-KOPSCH, révèle deux sortes de grains sur un fond légèrement réducteur. Les uns, situés dans la moitié basale des cellules, sont homogènes, ronds, elliptiques ou en croissant : leurs tailles s'échelonnent entre 1 γ et 3 γ, 5. Ils sont relativement peu nombreux et peu réducteurs. Les autres sont des vésicules sur lesquelles tranchent des plaquettes, disposées soit sur toute la surface, soit sur une partie seulement : elles figurent alors de petits arcs de cercle (Fig. 40 et 41). Ces derniers organites remplissent la cellule, mais sont surtout nom-

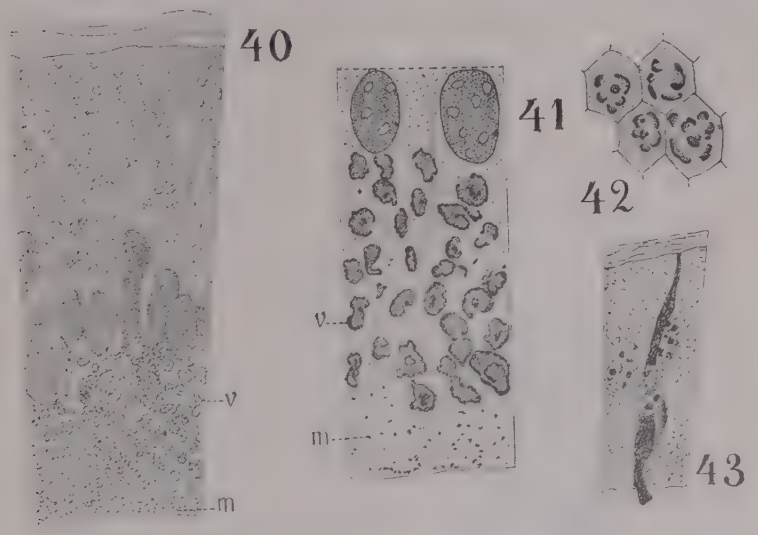


Fig. 40. Fixation MANN-KOPSCH. G = 590. Cellules élaboratrices de la coque. *v* = vésicules à périphérie réductrice ; *m* = mitochondries.
Fig. 41. Les mêmes. G = 1300.
Fig. 42. Section transversale des mêmes éléments. G = 1300.
Fig. 43. FLEMMING. Hématox. ferr.-éosine. G = 590. Cellule à contenu liquéfié chromophile du niveau correspondant à la figure 33.

breux au pôle apical où ils réduisent très vivement l'acide osmique. Ils possèdent deux parties distinctes, l'une réductrice, l'autre non, à l'intérieur l'une de l'autre, comme ceux du début de la première spirale, mais d'une taille un peu supérieure.

Dans une section transversale, on voit que ces vésicules occupent la partie centrale de la cellule, avec leur face concave tournée vers l'axe de l'élément. (fig. 42.).

On rencontre toujours, dans une section donnée du conduit quelques cellules isolées ou groupées par deux ou trois, dont tout le contenu est modifié. Le cytoplasme n'a plus la structure organisée que nous venons de voir : il est devenu très osmiophile avec des granulations fines plus noircies. Le contenu semble être liquéfié et mélangé. MOUCHET a vu et figuré ces éléments (fig. 102) déversant leur produit dans la lumière. Ils sont plus rares dans la région de la suture (fig. 43).

Les imprégnations à l'argent fournissent des résultats beaucoup moins caractéristiques. Les parties réductrices forment des petits cordons parallèles, souvent empâtés et mal délimités.

Les colorations mitochondriales à la fuchsine d'ALTMANN ou au violet de BENDA, les premières après fixation au HELLY, les secondes après le liquide de CHAMPY, montrent les trois sortes d'inclusions :

les mitochondries moins nombreuses à ce niveau, surtout proches de la membrane externe ;

les granules homogènes, entre la basale et les noyaux, vivement colorés, que nous considérons comme des formations parasomiques ;

les vésicules à périphérie chromophile, rouge ou violette et centre clair et les bâtonnets arqués bordés de substance plus pâle (teinte en rose par la fuchsine).

Les cellules à contenu désorganisé formant des traînées osmiophiles sont également très chromophiles et vivement colorées en rouge ou violet. (fig. 44).

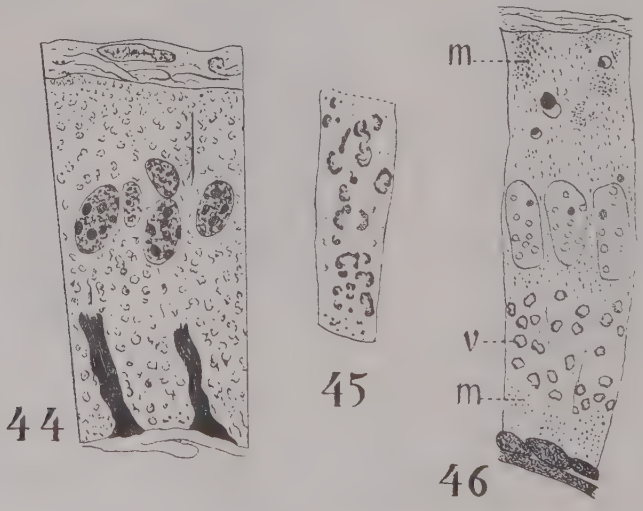


Fig. 44. HELLY- ALTMANN-vert de méthyle. G = 795. Mêmes éléments.
Fig. 45. MANN-KOPSCH. G= 1730. Partie apicale d'une cellule de la région suturale à petites vésicules.
Fig. 46. B.O.S.U. (bichromate de K, acide osmique, sublimé, nitrate d'urane, d'après la formule de BENOIT) — ALTMANN. G = 795. Cellules élaboratrices de la coque montrant es mitochondries basales et apicales (*m*) et les vésicules moyennes (*v*).

Après fixation au B. O. S. U., tout le cytoplasme de fond étant très colorable par la fuchsine, les inclusions précédentes ont une mince écorce périphérique chromophile peu tranchée, tandis que la région centrale chromophobe apparaît comme une flaque claire, relativement large. Le chondriome est vivement coloré en groseille, tandis que les grains parasomiques infranucléaires, ayant un peu réduit l'acide osmique du fixateur, se teintent en rouge sombre. Ils sont le plus souvent accolés à une partie non fuchsinophile, faiblement réductrice.

En outre, différentes teintures, basiques le plus souvent, telles que le bleu polychrome, le glychémalun, l'hématoxyline ferrique, le Giemsa, employés après les fixateurs ordinaires (Bouin alcoolique, Zenker) sont retenues plus fortement par les parties chromophiles des inclusions et donnent une apparence fibrillaire au cytoplasme.

Ces vésicules, mi-partie chromophile et chromophobe, deviennent plus grosses à mesure que l'on avance dans le canal et que les cellules s'allongent, pendant l'épaississement de la coque. Leur diamètre atteint 2 à 3 μ, 5 et même 4 μ (fig. 41), tandis que, dans la région suturale, ils restent plus petits et ne mesurent que 1 μ, 5 (fig. 45) (les éléments cellulaires y sont également moins grands). La partie chromophile paraît souvent formée de grains accolés, assez homogènes, de diverses grosseurs. L'aspect de ces éléments vésiculeux est voisin de celui des grains à coque décrits par R. Noel (1923) dans les cellules hépatiques de Souris. Ils ressemblent aussi beaucoup aux lépidosomes du chondriome actif vus par J. Filhol (1938) ches les Gastéropodes Pulmonés.

Cependant, comme nous n'avons pas eu l'occasion de suivre tous les stades du développement des canaux déférents d'*E. prideauxi*, nous n'affirmerons pas avec une certitude absolue que le chondriome ordinaire de notre matériel se transforme en lépidosomes ainsi que le décrit Filhol, à la suite de Parat et de son école (Volkonsky, Hosselet, Radu, Jacquiert, Feyel, Argeseanu et May). Toutefois, divers aspects d'éléments semblables de la paroi sécrétrice nous font croire que les organites vésiculeux dérivent effectivement des mitochondries comme le font de nombreux plastes, végétaux et animaux (Guillermond, Mangenot, Emberger, Gautheret, Noel, Murray et Jacquiert).

a) Une première disposition montre dans une même cellule la succession, à partir de la basale, de mitochondries, d'éléments vésiculeux, et de nouveau, apicalement, de chondriosomes fins, semblant être un reliquat de la dislocation des vésicules. (fig.46).

b) Une autre se présente lorsque les corps vésiculeux remplissent toute la cellule, le chondriome fin étant localisé contre la paroi externe uniquement.

c) Enfin, chez des mâles assez jeunes, on peut rencontrer un stade où les grains mitochondriaux se réunissent peu à peu en formant des chondriomites jusque dans la région périnucléaire : les vésicules se trouvent seules dans la zone supranucléaire et s'étendent jusqu'à la lumière. Il paraît bien y avoir passage progressif d'une inclusion à l'autre, par gonflement et confluence des plus petits grains pour former des chaînes, des cercles.

Les granulations parasomiques que l'on trouve aux mêmes niveaux semblent bien n'avoir rien de commun avec le chondriome.

3° *Région élaboratrice du pied.* — Les cellules des parois latérales du canal sont un peu plus allongées. La dépression où se forme le pied (figs. 35 et 36) se creuse peu à peu. Elle est bordée de cellules serrées, étroites, plus nombreuses et plus courtes qu'ailleurs. Le cytoplasme est rempli de granules mitochondriaux fins et de petites vésicules mi-parties chromophile et chromophobe, moins grandes que dans les cellules latérales. L'acide osmique dans la méthode de Mann-Kopsch les imprègne sous forme de chapelets droits, arqués ou circulaires. Les techniques mitochondriales les font apparaître comme plus haut. Dans la zone infranucléaire les sphérules parasomiques persistent toujours.

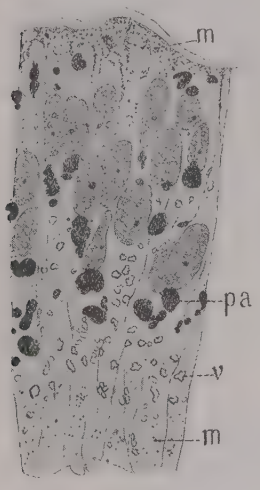


Fig. 47. B.O.S.U.-Altmann-vert lumière. G = 590 Eléments de la région correspondant à la figure 36. *pa* = parasomes ; *v* = vésicules à périphérie fuchsinophile ; m = mitochondries.

La fixation au B. O. S. U. révèle à ce niveau (à l'exclusion des autres fixateurs), dans les voies déférentes de mâles assez jeunes, de gros parasomes sphériques, ou en forme de virgule ou de flamme, situés dans la région nucléaire, (fig. 47). Ils sont assez réducteurs et colorés en rouge sombre par la fuchsine. Lorsque l'on traite les coupes par le permanganate de potasse, pour blanchir les éléments qui ont réduit l'acide osmique, la coloration par la fuchsine est alors groseille et souvent localisée dans le grain de sécrétion, sur des zones concentriques, séparées par des zones incolores ou rose très pale. Leur taille est variable, environ de 1 μ,5 à 4 μ de diamètre, et ils sont au nombre de 2 ou 3 par cellule.

C'est en cette région que ces inclusions nous paraissent se rattacher le plus nettement aux parasomes (ou pyrénosomes) des différents auteurs (Vigier, 1901 ; Launoy, 1903), particulièrement à ceux qui ont été décrits par Laguesse (1905) dans le pancréas de divers Vertébrés, surtout à ceux de la Salamandre, par Benoit (1925) dans les cellules déférentielles de Souris et de Rat ; ils ne présentent pas tout à fait la même forme rubanée que les parasomes décrits par Filhol (1938) dans les cellules de l'hépatopancréas et de l'appareil génital de Pulmoné, mais leurs propriétés sont les mêmes que celles décrites par l'auteur. Les parasomes vus par Jacquiert (1936) dans les ovocytes de certaines Araignées s'en écartent encore davantage, car ils se fondent dans le cytoplasme environnant et sont souvent centrés par un granule plus foncé. Les parasomes d'*E. prideauxi* sont très distincts du cytoplasme et leurs strates ne sont qu'exceptionnellement formés autour d'un grain central plus coloré.

Les propriétés tinctoriales de ces organites sont celles qu'indiquent Benoit et

Filhol : réducteurs faibles, ils prennent une teinte bistre dans le liquide B.O.S.U. ; ils sont alors nettement fuchsinophiles, sidérophiles, soudanophiles (avec une teinte rouge orangée). Cette dernière affinité pour les colorants lipidiques les distingue des nucléoles, dont ils possèdent d'autres propriétés tinctoriales (Laguesse). A l'inverse de Filhol, nous ne parvenons pas à les mettre en évidence par les imprégnations argentiques. L'imprégnation à l'acide osmique selon Mann-Kopsch, donne de moins bons résultats que la fixation au B. O. S. U.

On remarque chez *E. prideauxi*, comme l'ont fait les autres auteurs (Laguesse, Benoit, Filhol), que ces formations parasomiques prennent naissance au niveau des noyaux, le plus souvent à l'une des extrémités de leur grand axe ; cependant, le parasome ne coiffe pas le noyau comme une calotte, ainsi que le décrit Laguesse. Il forme une petite sphère, au contact de la membrane nucléaire, où il détermine une dépression légère. D'autres parasomes se trouvent à une certaine distance de part et d'autre des noyaux. Peut-être ont-ils pu émigrer dans le cytoplasme après être nés près du noyau ? Celui-ci renferme, en général, un ou deux nucléoles fuchsinophiles et osmiophiles, les autres inclusions nucléaires étant basophiles.

Aucune figure d'extrusion nucléolaire ne montre la participation directe du noyau à la formation du parasome. Si le noyau y prend part, c'est par diffusion de substance indécelable à travers sa membrane.

Zone III. — 1°. *Région où se modèlent les ampoules.* — Dans la portion du tube génital qui suit la première spirale, l'assise glandulaire se modifie : les cellules bordantes sont moins hautes et la lumière étroite contient un boyau spermatique très aminci (le diamètre du conduit a ainsi beaucoup diminué) ; les vésicules chondriosomiennes deviennent moins nombreuses et plus petites, pour disparaître peu à peu complètement, à mesure que l'on progresse vers la 2e spirale. Le nombre de cellules dans une section du canal est très réduit (fig. 48).

Simultanément, il apparaît, au voisinage des noyaux, des grains réduisant l'acide osmique, de forme sphérique ou hémisphérique, logés dans des vacuoles (figs. 48 et 49). Ils ont souvent à peu près la moitié de la taille d'un noyau ; ils sont présents pendant que se constitue, un peu plus

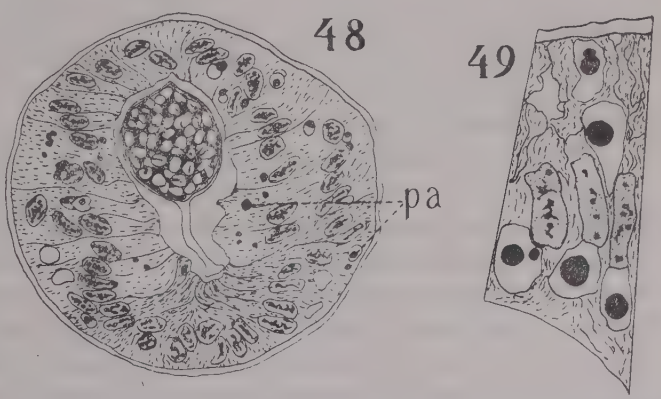


Fig. 48. Flemming-H.F.E. G = 350. Région étroite du canal à parasomes. logés dans des vacuoles. Début de la formation de la plaque basale *pa* = parasomes.

Fig. 49. Flemming-H.F.E. G = 795. Mêmes éléments.

bas, la plaque basale, perpendiculaire au pied. Nous pensons qu'ils sont de même nature que les parasomes, quoique les fixateurs les conservent mieux que ceux que nous décrivons au niveau précédent (ils sont respectés par le FLEMMING, le CHAMPY, le REGAUD, le HELLY, le MANN-KOPSCH ; souvent par le ZENKER, mais rarement par le BOUIN alcoolique). Ils ont les mêmes propriétés tinctoriales et réductrices que ces inclusions, mais en diffèrent par leur localisation dans un espace vacuolaire limité par un film de surface protoplasmique. Cette vacuole contient, outre l'organite osmio-fuchsinophile, un floculat provenant sans doute d'une substance fluide coagulée par le fixateur.

Dans les canaux fixés au B.O.S.U., signalés ci-dessus, on retrouve les parasomes volumineux, sans vacuole, sur toute la longueur de cette région.

Plus bas, lorsque se creuse la gouttière d'embase, le canal est modifié : les cellules de la glissière sont moints hautes que latéralement, leur cytoplasme est basophile et il y apparaît des vésicules chondriosomiennes. A ce niveau, les cellules à grains envacuolés proches des noyaux sont localisées de chaque côté, principalement le long de la génératrice du canal opposée à la glissière. Ces éléments allongés renferment des grains parasomiques fortement réducteurs, parfois une moitié plus que l'autre. Ils se colorent, mais peu fortement, par les colorants lipidiques (soudan III et noir soudane) et sont fuchsinophiles comme plus haut. Dans diverses techniques, ils se montrent plutôt basophiles, mais la partie peu ou pas réductrice prend, cependant, les teintes plasmatiques.

La même disposition persiste assez longuement jusqu'au début de l'apparition de la substance d'embase.

2°. *Région élaboratrice de l'embase.* — Nous avons vu que la sécrétion de l'embase se faisait sur une grande longueur du canal. Elle tire son origine de différents groupes cellulaires. Le premier de ceux-ci est visible dans les canaux déférents fixés au B.O.S.U, à l'endroit, très étroit, où se creuse la gouttière de l'embase (fig. 50). Il y a là des parasomes volumineux localisés d'abord au voisinage des noyaux, dans les cellules qui bordent la glissière et qui prennent part à la sécrétion de l'embase.

Une deuxième région sécrétrice se trouve un peu plus bas dans le conduit (elle existe seule chez les plus gros individus), au niveau où les sections déjà agrandies, montrent trois zones cellulaires nettement délimitées, déjà décrites par MOUCHET.

a) La première zone est impaire et limite la gouttière formée autour de la plaque basale (fig. 51). Les éléments qui la composent sont assez courts. Leur noyau, situé au tiers inférieur de leur hauteur est ovoïde et gonflé ; sa chromatine est en paquets localisés à la périphérie ou au centre ; il possède un ou deux nucléoles. Le cytoplasme, très chromatique, contient à partir de la basale, d'abord des mitochondries un peu grosses, puis au niveau des noyaux, des vacuoles bordées de granulations fuchsinophiles et des sphérules osmiophiles, dont le pourtour, plus réducteur, est tout à fait noirci par le MANN-KOPSCH. Au-dessus des noyaux, il y a des vésicules chondriosomiennes, jusqu'à une faible distance de la lumière ; à l'extrémité api-

cale, enfin, un chondriome finement granuleux borde la cellule. Ces éléments semblent être en pleine activité fonctionnelle. On en trouve parmi eux, un certain nombre, variable suivant les coupes, qui sont à un autre stade sécrétoire : leur cytoplasme est complètement liquéfié et forme des traînées chromatiques où les inclusions ne sont plus reconnaissables ; la membrane apicale est détruite et le contenu peut s'écouler dans la lumière. Leur noyau est généralement à un état de repos post-sécrétoire et de taille plus petite qu'à l'état actif, par perte d'une partie de son suc nucleaire ; la chromatine n'est plus en grains ou paquets distincts des nucléoles, mais semble s'être fondue avec eux et le reste du nucléoplasme, pour former une masse moins basophile, prenant partiellement les colorants acides. La réaction nucléale de Feulgen-Rossenbeck les montre colorés de façon à peu près homogène. Ces noyaux se rapprochent de la cavité du canal où ils sont souvent expulsés avec, parfois, des noyaux encore gonflés par leur suc nucléaire non éliminé.

Fig. 50. B.O.S.U.-Altmann-vert lumière. G = 263. Formation de l'embase de la zone III du canal. *pa* = parasomes.
Fig. 51. Flemming-H.F.E. G = 250. Début de la sécrétion de l'embase après la formation de la plaque basale. Les 3 zones cellulaires sont différenciées : 1, 2, 3.

Dans l'ensemble, les cellules de cette zone sont très semblables à celle de la première spirale du conduit. Elles fournissent du reste, dans cette première partie, de la substance qui s'incorpore à la plaque basale.

De chaque côté de cette partie médiane, les éléments à cytoplasme dense font place à d'autres, un peu plus allongés, très vacuolaires dans leur profondeur. Les vacuoles, nombreuses, peuvent être juxtanucléaires ou non, et, dans le premier cas, le noyau est déprimé à leur contact (mais n'émet pas de substance figurée) ; elles sont bordées de petites granulations réductrices, colorables en rose et rouge par la fuchsine, en noir par l'hématoxyline, autour de l'espace vide déterminé sans doute par la rétraction d'un liquide. Dans leur partie apicale, les cellules sont pareilles à celles du reste de la glissière.

b) La deuxième zone cellulaire est paire et située de part et d'autre de la gouttière de l'embase : elle comprend des éléments étroits et allongés, d'abord peu nombreux, disposés en faisceaux obliques. Leurs noyaux sont petits. Ils renferment des inclusions cytoplasmiques que Mouchet décrit comme présentant un aspect cristallin et colore par le vert lumière après fixation au Bouin, ce que nous n'avons pu réussir nettement à obtenir. Ces organites nous apparaissent comme de gros dictyosomes en forme de dé classique, situés dans toute la hauteur de la cellule. Ils sont groupés dans des plages de cytoplasme clair, que l'on trouve parfois logées dans un espace vacuolaire. Parfois ces plages qui réunissent les dictyosomes englobent le noyau. Les dimensions de ces inclusions sont de 4 μ environ (fig. 52 A et B.). Elles ont les propriétés réductrices et tinctoriales des dictyosomes en général : réduisant l'acide osmique et le nitrate d'argent, elles sont sidérophiles. De plus, elles prennent la fuchsine nettement, mais de façon peu intense, et se colorent faiblement en jaune orange par le soudant III et en gris foncé par le noir soudane. A noter que l'on ne trouve point, dans ces longues cellules, de chondriome défini : seules des granulations disséminées se colorent par la fuchsine.

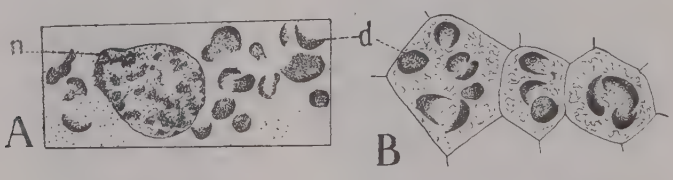


Fig. 52. A. Flemming-H.F.E. G = 1300. Dictyosomes (*d*) de la 2e zone cellulaire de la figure 51. *n* = noyau.
B. — B.O.S.U.-Altmann-vert lumière. G = 1300. Coupe transversale des mêmes éléments.

c) La troisième sorte de cellules forme deux groupes opposés à la glissière, divergeant à partir des deux points de la paroi externe, symétriques par rapport à un plan passant par le milieu de la gouttière et le sommet du canal. Elles font suite aux éléments du même type que nous avons vus dans la région de l'individualisation des ampoules au début de la zone III.

Mouchet a décrit dans ces éléments un noyau tronqué à son pôle tourné vers la cavité du canal et logé dans une grande vacuole. Nous ne voyons que rarement le noyau complètement inclus dans la vacuole, mais, presque toujours, on en trouve une à son contact, soit à l'un ou l'autre de ses pôles, soit latéralement. Il en résulte effectivement un aspect tronqué et même excavé du noyau (fig. 53). « Dans ces cellules, c'est évidemment le noyau qui préside à la sécrétion, tandis que dans les cellules de la zone N° 2, c'est le cytoplasme » dit l'auteur. Leur cytoplasme est surtout remarquable par sa vacuolisation. Les vacuoles se forment à proximité ou tout contre le noyau, à l'une ou aux deux extrémités de son grand axe. Certaines en sont éloignées, sans que l'on puisse affirmer qu'elles aient pris naissance loin du noyau. Ce dernier

est parfois profondément excavé par la présence de la vacuole et son volume est moindre que celui des noyaux sans vacuole.

Le contenu vacuolaire est formé de deux sortes de concrétions :

1° Une ou plusieurs sphérules lipo-protéiques, réductrices, fuchsinophiles, prenant les colorants des lipides, soudan III et noir soudane. Lorsqu'il n'y en a qu'une grosse, elle apparaît formée de zones concentriques, plus ou moins fortement teintées (fig. 54). Quand il y a plusieurs granules, ils sont homogènes (fig. 55).

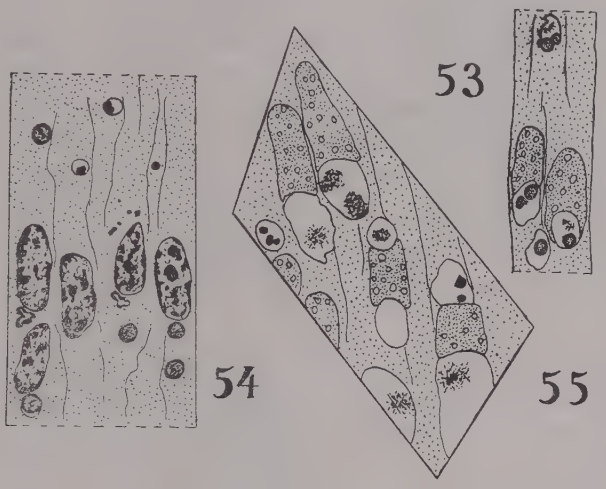


Fig. 53. B.O.S.U.-Altmann- v. lumière. G = 795. Noyaux excavés par les vacuoles avec inclusions parasomiques, dans la 3e zone cellulaire.

Fig. 54. Helly-Altmann-thionine. G = 795. Parasomes de la même zone inclus ou non dans des vacuoles.

Fig. 55. B.O.S.U.-Altmann-v. lumière. G = 795. Même zone, montrant de grandes vacuoles à contenu floculé et petits parasomes.

2° Un précipité floconeux de substance hyaline, non réductrice, prenant souvent mal les colorants plasmatiques et restant très pâle. Il semble résulter de la coagulation d'un fluide qui, s'il n'est pas rétracté par la fixation, remplit parfois la vacuole d'un contenu homogène. L'espace vacuolaire est limité par un film de surface qui prend l'aspect d'une véritable membrane.

Les sphérules réductrices paraissent être des parasomes comme ceux que nous avons vus dans la région précédente du canal. Elles en possèdent les propriétés, et, comme eux, ne diffèrent des parasomes de la première spirale, que par leur plus grande résistance aux divers agents fixateurs et à leur situation intravacuolaire. Malgré ces divergences, nous les rangerons parmi les inclusions cytoplasmiques tout à fait indépendantes du chondriome. Celui-ci est localisé contre la basale et au bord apical de ces cellules.

Bien que les noyaux soient déprimés au contact des parasomes, on ne voit pas d'émission nucléaire leur donnant naissance. Toutefois, certaines figures font penser que le noyau lui-même se vacuolise en partie et que la cavité produite, dilatée, renferme des éléments nucléaires liquéfiés et altérés, puisqu'ils ne possèdent plus toutes les propriétés des différents constituants nucléaires. Dans beaucoup d'autres cas, cependant, cette interprétation ne paraît pas convenir, la vacuole étant trop distincte du noyau. La réaction nucléale de Feulgen n'apporte aucune indication permettant de conclure à l'origine nucléaire de ces parasomes envacuolés. Il se pourrait qu'ils dérivent du noyau de la façon que nous suggérons ci-dessus, mais que l'altération du matériel nucléaire et nucléolaire, soit trop rapide pour que l'acide thymonucléique puisse encore donner la réaction de Feulgen. Il semble plus probable, qu'ici encore, le noyau agisse par diffusion de substances liquides invisibles, dans le cytoplasme voisin. Cette émission serait polarisée, puisqu'elle a lieu presqu'invariablement à l'un des bouts de l'axe longitudinal du noyau. Il se pourrait qu'un ferment protéolytique diffusât pour provoquer la lyse du cytoplasme autour du grain parasomique. Dans l'impossibilité où nous sommes d'effectuer des réactions décelant le passage de substances dissoutes entre le noyau et le cytoplasme, nous ne pouvons que faire des conjectures sur les rôles respectifs de ces deux parties cellulaires dans la constitution des parasomes d'*E. prideauxi*.

Quoique de nombreux auteurs (Millot, Fischer, Alexeieff, Launoy, Aron, Benoit, Kurkiewicz, De Winiwarter, etc...) aient vu une émission des constituants figurés du noyau dans le protoplasme lors des processus sécrétoires, les cas sont non moins nombreux, où l'action du noyau s'effectue de façon discrète. C'est ainsi que Lesperon (1937) n'a pas vu l'expulsion de nucléoles dans les cellules sériciginènes du *Bombyx* décrites par plusieurs auteurs (Maziarski, 1911 ; Nakahara, 1917 ; Paillot et Noel, 1928) ; de même que Grynfelt (1937) en étudiant les modifications nucléaires au cours de la sécrétion de la glande mammaire voit le noyau agir indirectement et non « excréter des substances chromatiques comme l'avait cru Steinhaus (1892) ». Il observe aussi les noyaux déprimés par la proximité de grosses boules de sécrétion graisseuses, et figure même une enclave de graisse au sein d'un noyau. Benoit figure également des vacuoles formées au contact de noyaux excavés par leur présence, dans l'épididyme de Taureau.

Zone IV. — On retrouve, le long des premiers tours de la deuxième spirale, les trois régions cellulaires précédentes qui évoluent très peu.

a) d'après Mouchet, la région de la glissière n'est plus glandulaire ; nous ne partageons pas cet avis, car les éléments qui la constituent ont la même structure qu'auparavant et montrent une activité élaboratrice manifeste. Les noyaux de nombreuses cellules sont au terme de leur cycle fonctionnel et perdent leur affinité basique pour prendre les teintures les plus acides, comme ils le font déjà plus haut dans le canal (fig. 56).

b) les longues cellules latérales ont toujours les mêmes éléments dictyosomiens qui les caractérisent ;

c) la troisième région cellulaire se développe à mesure que le conduit grandit ; elle entoure toute la partie ampullaire des spermatophores. Les élements divergents du sommet du canal se sont allongés, ils sont suivis de chaque coté par de longues cellules parallèles, placées un peu obliquement. Les vacuoles à parasomes sont plus nombreuses que précédemment et sont toujours à proximité des noyaux. La dépression qui se forme dans le noyau est le plus souvent tournée vers la base de la cellule ; parfois il se creuse une vacuole à chaque pôle nucléaire. Par ailleurs, les noyaux normaux de ces cellules sont grands, allongés et pourvus de plusieurs nucléoles, tandis que ceux qui sont excavés sont nettement plus petits, sans que l'aspect du nucléopasme ou de la chromatine ait changé à leur intérieur ; les nucléoles sont, en général, moins nombreux.

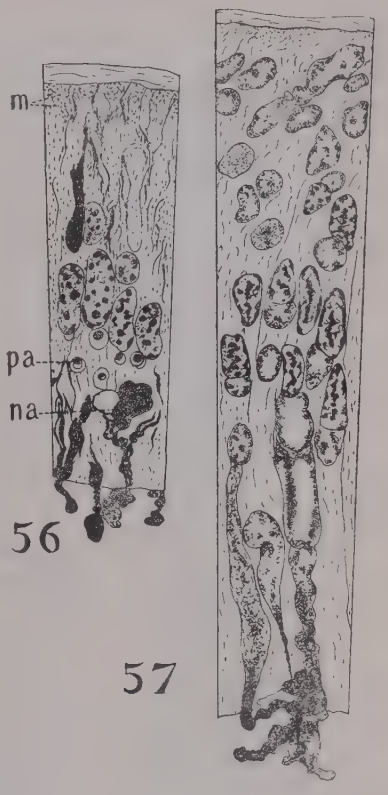


Fig. 56. Même technique. G = 590. Eléments bordant la glissière d'embase (zone 1) à contenu chromatique s'écoulant dans la lumière. *m* = mitochondries ; *pa* = parasomes ; *n.a.* = noyau altéré.

Fig. 57. FLEMMING-H.F.E. G = 590. Eléments de la 3e zone cellulaire à la fin de la 2e spirale ; vacuoles contenant un précipité floconneux s'écoulant dans la lumière du canal.

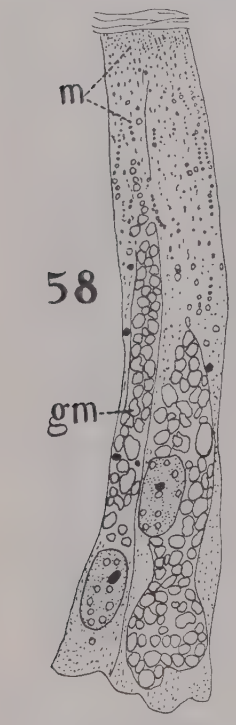
Dans cette même région cellulaire, il apparaît, vers le milieu de la 2e spirale, un autre produit de sécrétion, dans des vacuoles également. Les fixateurs le coagulent sous forme de précipité floconneux qui prend certains colorants basiques, d'autres acides, mais ne réduit pas l'acide osmique (fig. 57).

A l'extrémité distale de la 2e spirale, les divers éléments du canal sont très modifiés, ainsi que MOUCHET l'a indiqué dans son étude. Le diamètre du conduit diminue et les longues cellules obliques de la 2e zone sont les premières à disparaître.

Les éléments de la gouttière d'embase sont remplacés par d'autres, dépourvus des inclusions qui s'y trouvaient précédemment.

Dans la région du canal entourant les réservoirs des spermatophores, les vacuoles n'existent plus dans le protoplasme à proximité des noyaux ; ceux-ci, qui étaient ovoïdes plus haut, sont maintenant sphériques. Les cellules ont diminué de hauteur et ont le même aspect tout autour du canal ; le cytoplasme contient des granulations colorées comme le mucus qui entoure le pied du spermatophore.

Zone V. — Dans le canal droit, après la spirale, on trouve, dans les cellules, un produit d'élaboration sous forme de gros grains juxtaposés, sans être rétractés, et logés dans un espace vacuolaire, (fig. 58). On ne les trouve pas dans tous les conduits déférents. Ils sont colorables par des colorants plasmatiques (vert-lumière) ou nucléaires (safranine). Ce sont des protides non réducteurs. Au même niveau on trouve un chondriome dispersé, plus abondant près de la basale où il est formé de mitochondries ; plus haut se trouvent des chondriocontes courts, dont certains semblent être à l'origine des grains de sécrétion prédécents qui naissent à leur contact de façon analogue aux plastes. On voit les petits grains bordés d'un côté par le chondrioconte qui n'est plus visible dans les plus gros granules. Il nous semble que ce soient des inclusions semblables que MOUCHET a vues dans certaines cellules de la glissière, chez *E. bernhardus*, sans toutefois les signaler chez *E. prideauxi* ; elle les colore par l'orange et leur attribue le rôle de durcir les spermatophores en les déshydratant.



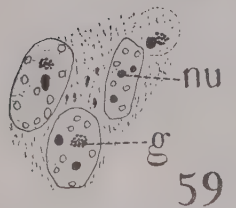


Fig. 58. B.O.S.U.-ALTMANN-v. lumière. G = 795. Eléments du canal après la deuxième spirale ; vacuoles contenant un produit d'élaboration muqueux. *m* = mitochondries ; *g.m* = grains muqueux.

Fig. 59 Même technique. G = 795. Noyaux du canal après la deuxième spirale, contenant des nucléoles fuchsinophiles *(nu)* et une plage de grains réducteurs fuchsinophiles. (*g*).

C'est aussi tout au début de cette portion du conduit que nous avons observé, sur une faible longueur, 1 mm environ, des granules particuliers à l'intérieur du noyau : ils sont petits, de différentes tailles, sphériques, et forment un petit paquet, le plus souvent situé à l'un des pôles nucléaires. Ils sont présents avant la disparition de la gouttière d'embase et dans presque tous les noyaux autour du canal. Distincts des nucléoles, ils réduisent l'acide osmique et se colorent par la fuchsine acide. Leur évolution n'a pu être élucidée. Ils pourraient provenir d'une fragmentation nucléolaire, et il semble, dans certains endroits qu'ils soient expulsés du noyau ou sur le point de l'être (fig. 59).

Zone VI. — Dans la partie distale, de nouveau élargie, du canal déférent, la paroi redevient glandulaire et activement sécrétrice. C'est à ce niveau que se développe le repli de la muqueuse que MOUCHET a appelé *typhlosolis*. Elle y met en évidence des concrétions colorables par le vert lumière.

Dans ce repli, les cellules plus hautes que sur le reste du pourtour du canal, élaborent leurs grains de sécrétion surtout en profondeur. Ces derniers acquièrent leurs propriétés tincto-

riales dès leur formation au sein du cytoplasme ; ils présentent les affinités des mucus (fig. 60).

L'imprégnation selon MANN-KOPSCH montre dans le cytoplasme des inclusions faiblement réductrices, sphériques ou annulaires, qui paraissent correspondre aux grains de mucus. De place en place, surtout à la base des éléments, se trouve une plage sphérique bourrée de grains réducteurs. Les autres colorations et fixations n'ont pas mis ces formations en évidence. Enfin, à la périphérie des cellules, surtout en profondeur, de fines granulations très osmiophiles dessinent les limites entre éléments voisins. Le chondriome, s'il existe, n'a pu être décelé.

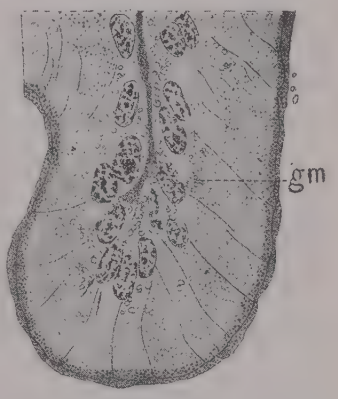


Fig. 60. ZENKER-H.F.F. G = 590. Typhlosolis de la région distale du conduit déférent avec un produit de sécrétion en granules muqueux (*g. m.*).

LES PROCESSUS SÉCRÉTOIRES DES ÉLÉMENTS GLANDULAIRES.

Le flux des spermies qui s'écoule du testicule, déjà noyé par un liquide muqueux provenant de la glande même, reçoit le mucus produit au commencement du conduit génital. L'assise syncytiale interne se comporte comme une glande étalée en surface ; son cytoplasme se détache en lambeaux fibrillaires, qui se liquéfient peu à peu dans la cavité du canal. Il en résulte la formation d'un mucus vrai qui enrobe le flux spermatique et pénètre entre les spermatozoïdes. La coagulation due aux fixateurs lui donne une allure spongieuse.

Les noyaux hypertrophiés semblent, de leur côté, se liquéfier et contribuer à la formation du mucus. Celui-ci proviendrait donc d'une véritable fonte cellulaire après une élaboration cytoplasmique intense. Sur la basale, des noyaux de remplacement reconstitueront le syncytium après sa phase de sécrétion (c'est ce qui se passe dans la glande mammaire, lors de la fonte cellulaire aboutissant à la sécrétion lactée provoquée (GRYNFELT, 1938)).

Dans la portion étroite du canal qui vient ensuite, la fonte cellulaire semble très réduite. On peut mettre en évidence, mais seulement avec le mucicarmin, quelques flocons de mucus autour des rares spermatozoïdes dans la lumière du canal. Ce produit ne parait pas provenir des cellules dont l activité sécrétrice est nulle ou très diminuée à ce niveau.

Le conduit ne redevient visiblement actif qu'au voisinage immédiat de la première spirale, à l'endroit où commence à se former la coque. Les mêmes processus président à l'élaboration de la substance de la coque, du ciment sutural et du pied ;

le long de la première zone spiralée du canal. Nous en distinguons deux types : l'un du mode mérocrine ; l'autre, moins fréquent, est holocrine.

a) *Sécrétion mérocrine de la coque.* - La matière qui constituera la coque n'apparaît pas sous sa forme définitive dans les éléments qui la produisent. Une substance est émise à travers la membrane cellulaire, d'abord dans la région suturale, puis sur tout le pourtour du conduit. Elle doit transsuder sous une forme très fluide, non visible, et devenir rapidement plus visqueuse dans la lumière, car elle prend immédiatement l'aspect homogène et vitreux qu'elle présentera par la suite. Une fois cette première couche formée, la coque s'épaissit à l'aide de nouveaux apports, coagulables par les fixateurs en un précipité floconneux. Lorsque les valves de la région suturale sont édifiées sur le ciment préalablement formé, elles contiennent de très fines granulations un peu réductrices, qui persistent un certain temps avant que la substance ne soit devenue homogène.

La lame qui forme le pied se constitue de la même façon dans la profonde rainure où elle s'encastre.

La sortie d'un produit de sécrétion est visible sur le bord de la lumière, sous forme de traînées vésiculeuses, un peu granuleuses, extérieures aux membranes cellulaires. Elles ont encore la teinte du colorant plasmatique. La substance de nature mucoïde de la coque n'imprègne pas le cytoplasme, comme c'est le cas pour la mucine dans les cellules cartilagineuses (Guyon, 1931). Elle change de nature dans la lumière du canal, comme le fait la soie lors de son émission (Lesperon, 1937). Le produit semblerait provenir des inclusions chondriosomiennes décrites plus haut. Elles seraient disloquées et donneraient d'une part, une matière fluide, non réductrice, susceptible de dialyser à travers la membrane cellulaire, dans la cavité du conduit, et, d'autre part, un « reliquat », formé par la partie réductrice (chromophile) des organites ci-dessus, pulvérisée en granules fins restant localisés dans le cytoplasme marginal. Ces grains possèdent encore des propriétés chondriosomiennes. Une fois émise dans la lumière, la substance de la suture et de la coque devient rapidement homogène et vitreuse : elle apparaît, au début de sa formation, comme une mince lame appliquée contre les cellules. Elle ne se colore pas dans la teinte des inclusions cytoplasmiques ci-dessus, mais réduit légèrement l'acide osmique et pas du tout le nitrate d'argent. En général basophile, elle prend souvent par endroits, les colorants acides. Ces affinités variables s'expliquent peut-être par le fait que le pH de la coque, compris entre 6,6 et 7, est voisin de la neutralité. Ses propriétés chromotropes, visibles avec le bleu polychrome, et sa faible colorabilité par le mucicarmin, la distinguent aussi des vésicules chondriosomiennes qui n'ont pas ces affinités.

Les sphérules réductrices (parasomiques) de la région basale ne sont pas émises dans le canal, tout au moins à l'état figuré. Elles représentent peut-être seulement un état transitoire du cytoplasme, contribuant au fonctionnement normal des éléments glandulaires de cette région ; il se pourrait aussi qu'elles aient une autre destination, comme les gros parasomes qui existent plus bas.

b) *Sécrétion holocrine de la glande.* Certains des éléments dont le cytoplasme est devenu très chromophile, en se « liquéfiant », semblent avoir un mode de sécrétion holocrine. Ils présentent des traînées s'écoulant dans la lumière par l'extrémité ouverte de la cellule et s'étalant entre la paroi et le boyau spermatique. Les noyaux sont parfois entraînés dans le protoplasme manifestement fluide. Il ne nous paraît pas que ce soient des figures d'altération, car elles ne sont pas présentes dans toutes les régions du canal, mais seulement dans certaines zones déterminées.

Au cours de la fragmentation du boyau en ampoule, il ne semble pas y avoir de substance concrète déposée dans le canal. Seule la plaque basale est encore sécrétée. Peut-être y a-t-il un début de durcissement de la coque en même temps qu'elle est modelée, à l'aide d'une substance indécelable ?

Après que les ampoules ont été façonnées, il se déverse dans le canal la substance qui constituera l'embase du spermatophore. Nous avons vu (p. 106) qu'elle apparaissaît d'abord dans la région étroite du canal, entre les deux zones spiralées. Cette substance dérive, à cet endroit, des gros parasomes groupés en paquets volumineux dans les cellules de la paroi, surtout autour de la glissière qui se creuse. Ces boules de sécrétion sont localisées près de la paroi du canal, tout à côté des noyaux ; elles s'agglomèrent apicalement, remplissent tout le cytoplasme qui disparaît, et la masse de l'embase formée au bas du pied occupe toute la cavité qu'elle détermine *in situ*. Les cellules pariétales se trouvent réduites à un mince épithélium entourant l'embase. La substance de cette dernière n'a plus toutes les propriétés des parasomes, et, en particulier, une fois définitivement élaborée, elle ne prend plus les colorants lipidiques.

Quand cette première région est épuisée, un segment plus rapproché de la deuxième spirale entre en sécrétion. L'embase est alors formée par la fonte des cellules qui bordent la glissière, Mais ces cellules ne possèdent pas les volumineux parasomes des éléments précédents. Ce sont d'abord les longues cellules latérales à gros dictyosomes qui fonctionnent. Il s'en détache des plages cytoplasmiques contenant des organites et souvent le noyau altéré. Ces blocs viennent se placer contre la plaque basale, dans la lumière de la glissière. Les masses ainsi détachées composées de cytoplasme avec ses inclusions et ses noyaux, se mélangent, sont autolysées et deviennent homogènes, pour donner la substance de l'embase. Celle-ci conserve certaines des propriétés tinctoriales des éléments qui lui ont donné naissance : elle est fuchsinophile, sidérophile et un peu réductrice.

Ce sont ensuite les cellules du pourtour de la glissière qui fournissent la matière de l'embase. Beaucoup d'entre elles sont au stade où le cytoplasme chromatique est liquéfié et le noyau, vidé de son suc nucléaire, devenu compact. Il est possible que ce soit l'expulsion d'une partie du nucléoplasme qui détermine la fonte du protoplasme et le début d'histolyse qui paraissent se produire ; car, dans ces éléments le noyau a presque toujours cet aspect compact d'un état post-sécrétoire. Il se déplace souvent vers la lumière et est entraîné par le contenu cellulaire se déversant peu à peu dans le canal par lambeaux fortement teintés. C'est ainsi que s'épuisent progressivement

toutes les cellules de la glissière, qui finissent par être réduites à leur région basale, reconstituant un épithélium plat à éléments peu nombreux. Il y a donc là un processus très net de sécrétion holocrine, de nombreuses cellules disparaissant totalement, a côté des rares qui subsistent.

Les débris cellulaires, noyau et protoplasme, se liquéfient pour former ensemble la substance d'embase.

La réaction nucléale de Feulgen-Rossenbeck ne montre cependant pas directement la participation des noyaux à la formation de cette matière. En effet, l'embase ne réagit pas positivement avec la fuchsine de Schiff, tandis que les noyaux compacts qui passent dans la lumière du canal, recolorent, dans toutes leurs parties, la fuchsine décolorée. On sait que la réaction nucléale décèle dans le noyau l'acide thymonucléique, à l'exclusion de l'acide zymonucléique, par suite de la libération, lorsqu'on l'hydrolyse, du d. ribodésose, qui seul chez les être vivants, recolore la fuchsine décolorée (Lison, 1936 ; Brachet, 1938). La perte de la propriété de donner la réaction nucléale positivement montre que, si les noyaux participent à la formation de l'embase, le d. ribodésose disparaît. Nous ne pouvons dire quelle transformation il subit. Il se pourrait qu'il fut oxydé et se transformât en ribose ; en effet, dans le cas de *P. arrosor* (voir p. 71) nous avons obtenu une réaction décelant la présence d'un pentose dans le ruban de spermatophores à l'état frais, de même que dans les spermies, par la réaction de Thomas au β naphtol-acide sulfurique.

Les données de Mouchet ne concordent pas en ce qui concerne le rôle des sécrétions à ce niveau chez les deux Pagures qu'elle a étudiés. Chez *E. bernhardus*, elle pense que les cellules bordant la glissière fournissent l'embase et que les longs éléments latéraux émettent du mucus accumulé entre l'embase et le bas du réservoir contenant les spermies. Tandis que chez *E. prideauxi*, la première zone produit, selon l'auteur, la région interne de l'embase et la seconde élabore le pourtour de ce support. Elle ne précise toutefois pas exactement ce qui différencie ces substances l'une de l'autre.

Le dernier *Eupagurus*, qui seul nous intéresse, montre les trois sortes de sécrétions décrites par l'auteur chez les deux espèces : la différence provient de ce que les cellules d'une zone donnée semblent émettre deux produits selon des modes sécrétoires différents et le niveau considéré. En effet, les éléments limitant la gouttière participent d'abord à la formation de la plaque basale, que l'auteur désigne sans doute comme « la région interne de l'embase » ; puis, plus loin, dans la deuxième spirale, ils fournissent aussi la substance de l'embase. De même, les grandes cellules latérales élaborent cette matière avant que le canal ne s'enroule en spirale ; puis elles sécrètent le mucus autour du pied de l'appareil dans les tours de spire suivants.

Le produit de sécrétion de la 3e zone cellulaire du canal au début de la deuxième spirale n'est visible dans la cavité qu'au sommet du conduit opposé à l'embase. Les sphérules réductrices des vacuoles sont émises avec des flocons de cytoplasme ambiant. Leur rôle n'est pas défini. Mouchet ne leur en a pas assigné non plus. Il semblerait qu'elles doivent s'ajouter à la substance d'embase dont elles possèdent en partie

les affinités tinctoriales ; mais cela n'apparaît pas nettement dans les coupes, et l'on ne voit pas la substance passer du pôle ampullaire au pôle opposé de la cavité du conduit.

Les mêmes produits sont déversés dans la majeure partie de la deuxième spirale. Lorsque la glissière a cessé de fonctionner sur un segment donné, les cellules vidées forment un épithélium plat qui se reconstituera en éléments glandulaires par la suite. Les tronçons successifs, de différentes longueurs, sont soit en pleine activité sécrétrice, soit au repos post-sécrétoire, soit dans la phase de reconstitution cellulaire.

Dans les deux autres zones, dont la production n'est pas holocrine, on n'observe pas un épuisement alternatif des éléments.

En résumé, le spermatophore, entièrement constitué à ce niveau, apparaît comme formé de la façon suivante :

Il s'incorpore aux spermies mûres un mucus formé par délamination du cytoplasme d'une région à peine différenciée du syncytium nourricier de la lignée germinale.

La masse spermatique s'entoure d'une coque formée principalement par une sécrétion mérocrine et filtration d'une substance fluide à travers la membrane, matière non figurée dans le cytoplasme sous sa forme définitive.

Un prolongement lamellaire de la même substance se dépose le long d'une des génératrices du canal et forme le pied.

Un support adhésif ou embase s'accumule au bas du pied. Il résulte de plusieurs sécrétions :

a) d'une substance élaborée au sein des cellules, s'accroissant *in situ*, possédant déjà certains caractères tinctoriaux de l'embase ;

b) de contenus cellulaires liquéfiés, avec leur noyau et des dictyosomes provenant des cellules latérales obliques ;

c) de la sécrétion holocrine des éléments de la glissière d'embase, précédée souvent de l'expulsion de noyaux altérés.

Tous ces éléments subissent dans la lumière un remaniement chimique qui rend la substance homogène. Peut-être un autre produit de sécrétion intervient-il pour aider ou provoquer cette transformation ? On peut penser qu'elle consiste en une dégradation des matériaux cellulaires expulsés, aboutissant à une substance moins complexe. L'action d'un ferment intervient-elle pour atteindre ce résultat ? Il semble impossible de le démontrer.

Plus bas, les longues cellules latérales, qui ont cessé de fournir l'embase, émettent sur leur bord une substance floculée qui forme une partie du mucus autour du pied du spermatophore. Une autre partie nous semble provenir du produit précipité par les fixateurs dans les vacuoles de la 3e zone cellulaire, dans la dernière moitié de la deuxième spirale. Il est rejeté dans la cavité sous forme de flocons semblables au mucus accumulé entre l'ampoule et l'embase.

La destinée des gros grains muqueux qui apparaissent au sein des éléments à la

fin de la deuxième spirale, n'est pas visible (fig. 58). Ils semblent être émis dans la lumière et servent sans doute à emballer les spermatophores en lubrifiant la portion suivante du canal ; ils donnent peut-être à la coque sa consistance définitive.

Dans la région distale redevenue glandulaire, à typhlosolis, les granules muqueux, également formés à l'intérieur du cytoplasme, sont rejetés dans le canal et se détachent au bord de la cellule, pour aller s'agglomérer au centre du réservoir entre les pointes des spermatophores. Il y a deux sortes de produits sécrétés : l'un colorable comme les mucoïdes (nous l'avons vu formé dans le cytoplasme), l'autre, prenant les mêmes teintures que l'embase, paraît aussi formée sous sa forme définitive dans les cellules.

RÉSUMÉ DE LA PREMIÈRE PARTIE

Nous pouvons résumer de la façon suivante, les recherches exposées dans la première partie de ce travail .

Les Pagurides que nous avons examinés possèdent des spermatophores constitués par une enveloppe bivalve, dont les deux moitiés sont soudées le long d'une ligne méridienne, par un ciment sutural. Cette enveloppe renferme les spermatozoïdes qui baignent dans un liquide colloïdal. Annexés à l'ampoule close se trouvent des dispositifs susceptibles de faire adhérer l'appareil sur la femelle : ce sont l'embase, les pédicules et les voiles. Ces différentes parties d'un spermatophore sont des gels colloïdaux plus ou moins rigides, élastiques et glutineux. Leur pH est légèrement acide et s'échelonne, suivant les régions, entre 6,6 et 7. Le milieu intérieur du conduit élaborateur de ces productions est un peu plus acide à pH 6,4.

L'analyse chimique qualitative des constituants des spermatophores montre que ce sont des protéines conjuguées à groupement glucidique variable suivant les parties considérées. Le groupement protéidique contient certains acides aminés (tyrosine, tryptophane, arginine, acides thioaminés). Seul le groupement prosthétique présent dans la coque et les voiles a pu être identifié avec un ester sulfurique de polyoside, voisin, sinon identique à l'acide mucoïtine-sulfurique des mucoprotéides. Cette composition permet de faire certains rapprochements avec les substances mucoprotéidiques d'une part, et avec les kératines, la soie et la chitine, d'autre part.

Dans le canal déférent, les spermatophores sont soumis à un ensemble de facteurs physico-chimiques qui conditionnent en grande partie leur inertie. Ils sont cependant destinés à s'ouvrir pour libérer les spermatozoïdes dans le milieu externe. Leur ouverture se fait toujours le long de la suture, moins résistante. Difficile à saisir dans les conditions naturelles, où elle n'a pas été observée, elle est facile à provoquer dans certains milieux expérimentaux. Pour déterminer ceux qui favorisaient ce fonctionnement, nous avons examiné séparément les rôles des facteurs suivants sur les appareils des divers Pagures : le rôle du pH, de la tension osmotique, des cations alcalins et alcalino-terreux, des solutions oxydantes, des milieux réducteurs, des ferments digestifs, et, enfin, des produits génitaux femelles.

Les résultats acquis indiquent que les corps inertes du spermatophore sont, de même que les spermies, soumis aux lois physiques et chimiques qui régissent les col-

loïdes protéiques. Cela est surtout net dans les milieux acides et alcalins qui produisent des gonflements maxima à pH 2 et à pH 12,12. Les ions OH^- se montrent plus actifs sur le gonflement que les ions H^+ et déterminent, même s'ils sont peu concentrés, la déhiscence de presque tous les appareils, à une vitesse maximale à pH 12. La lyse de la suture intervient plus fortement à pH 14 et produit un deuxième maximum dans la vitesse des ouvertures. Les acides et surtout les alcalis, produisent la coagulation du contenu de l'ampoule de façon irréversible, sans pour cela empêcher sa dilatation et sa contraction normales de s'effectuer.

Dans l'action successive des ions H^+ et OH^- on observe un antagonisme réciproque, s'exerçant dans l'un ou l'autre sens, suivant les Pagures, ce qui démontre de petites variations spécifiques entre spermatophores différents.

La tension osmotique du milieu a une action sur certains spermatophores seulement, tels ceux d'*E. prideauxi*. Son rôle est cependant manifeste sur la dévagination et le gonflement des spermies, ainsi que l'ont montré F. Bloch et Susaeta.

Les sels présents dans l'eau de mer ont une influence notable sur tous les appareils pour inhiber les déhiscences. Les quatre principaux cations alcalins et alcalino-terreux de l'eau marine, employés seuls, à une concentration isotonique avec la sienne, ont des effets semblables. On peut noter cependant des différences dans les résultats enregistrés suivant l'ion qui intervient ; mais il faut, pour les mettre en relief, employer un « réactif » susceptible de montrer les modifications produites par les cations. A cet effet, nous avons utilisé l'action consécutive de la soude centinormale. Seule, elle provoque le maximum d'éclatements dans un temps minimum. Précédée par le milieu salin elle n'est plus aussi efficace sur la déhiscence des spermatophores. Celle-ci est retardée ou arrêtée complètement pour de nombreux appareils. L'action inhibitrice des cations sur les spermatophores d'*E. prideauxi* croît dans l'ordre suivant :

$$Cl^2Mg < ClK < ClNa < Cl^2Ca.$$

On constate, en outre, un antagonisme entre les cations quand on fait intervenir dans les mêmes conditions des mélanges deux à deux des quatre chlorures. Leur action freinatrice sur les ions OH^- fournit une échelle analogue à la précédente, où l'on voit Ca s'opposer le plus aux déhiscences, surtout en présence de sodium.

Les solutions oxydantes de permanganate de potasse, d'hypochlorite de soude, pures, et l'eau oxygénée ont des effets variables sur les éclatements. En présence d'eau de mer, elles accroissent la résistance de la suture à la lyse par la soude.

Les substances réductrices ont un effet important ; elles provoquent, en général, les déhiscences de tous les spermatophores, même en présence d'eau de mer, et, toujours, la distension de la coque. La forte alcalinité du milieu favorise cette action qui semble liée à la présence du soufre dans la molécule protéidique de la coque et du ciment sutural, comme certains auteurs l'ont montré (Astbury) dans l'action des réducteurs sur les kératines.

Parmi les ferments digestifs, ceux des Invertébrés agissent en général spécifiquement sur les spermatophores. La pepsine de Vertébré n'agit pas, mais la trypsine commerciale provoque des ouvertures, sauf chez certaines espèces.

Nos expériences avec des macérations du tractus génital femelle nous ont donné les mêmes résultats négatifs qu'à MOUCHET et à BLOCH.

Il ressort de nos observations sur les spermatophores que, dans les mécanismes de leur déhiscence expérimentale deux facteurs interviennent : la liquéfaction du ciment sutural à l'extrémité apicale de l'appareil et l'augmentation de la pression à l'intérieur de l'ampoule. Leur action est le plus souvent combinée, mais le premier peut agir seul, comme dans le cas des diastases, par exemple.

Dans certaines conditions naturelles (déhiscence spontanée dans le canal déférent et dans l'eau de mer), l'ouverture se fait selon le premier mode, par la pointe. C'est aussi le cas des appareils trouvés vides sur des femelles immatures. Ces déhiscences atteignant quelques spermatophores entre beaucoup d'autres restés réfractaires, semblent dénoter des différences de « maturité » entre eux. Il ne nous a pas été possible de déterminer si cette « maturation » consistait en une autolyse du colloïde de la suture, ou en une intervention de nature enzymatique à l'intérieur du canal mâle.

L'étude histologique du tractus sexuel d'*E. prideauxi* montre que les diverses parties du spermatophore sont sécrétées par les cellules du type glandulaire qui forment le revêtement interne du canal déférent. On peut distinguer :

a) la région où le colloïde se mélangeant aux spermies est émis par la délamination au bord des cellules ;

b) la partie contournée en spirale qui sécrète la coque, en commençant par le ciment de la suture. Le produit fluide des éléments est formé dans de petites vésicules qui paraissent se détruire en exsudant leur contenu au bord de la lumière du conduit ;

c) la zone où se fragmente en ampoules séparées le ruban d'abord continu des spermies dans leur coque, et où se forme le pied.

d) la région qui sécrète l'embase, formée par certaines enclaves (parasomes) et le fonctionnement holocrine d'autres cellules (celles de la gouttière d'embase) ;

e) la partie distale où les éléments fournissent du mucus élaboré à l'intérieur du cytoplasme pour entourer les spermatophores qui cheminent vers la région élargie du canal déférent transformé en réservoir avant l'orifice sexuel.

DEUXIÈME PARTIE

Le Spermatophore des Mollusques Céphalopodes.

Chapitre I

Le Spermatophore à l'état statique.

Généralités.

Afin de nous rendre compte si les faits essentiels mis en évidence, par l'étude des spermatophores de Pagurides, avaient quelque degré de généralité, nous avons appliqué les mêmes techniques et méthodes aux appareils spermatiques des Céphalopodes.

1) Introduction.

L'existence, chez les mâles de ces Mollusques, d'appareils spéciaux destinés à emmagasiner le sperme a été reconnue par de nombreux auteurs depuis que Swammerdam et Needham les signalèrent à la fin du 17e et au milieu du 18e siècles.

Ce sont des productions des organes sexuels isolant des portions successives du flux spermatique dans des membranes anhistes. Milne Edwards, en 1842, a donné le nom de spermatophores à ces produits du tractus génital des Céphalopodes. Ils servent au transport et à la mise en réserve des gamètes mâles sur la femelle, en attendant la ponte des ovules mûrs à féconder.

Leur étude s'est poursuivie à de longs intervalles, depuis le début du siècle dernier, ainsi que le montre G. Fort (1937) dans l'aperçu historique qu'il a donné. Nous mentionnerons seulement, ici, ceux d'entre les auteurs qui ont le plus contribué aux connaissances actuelles sur ces formations.

On doit à Milne Edwards et Peters la première description complète des spermatophores de *Sepia officinalis* L., *Loligo vulgaris* Lam., *Octopus vulgaris* Lam.,

O. macropus Risso et d'*Eledone moschata* Leach, ainsi que la nomenclature des différentes parties qui les composent. Celle-ci a été un peu modifiée par Duvernoy (1853) lorsqu'il décrivit les spermatophores de la Sépiole.

En 1894, Racovitza étudie de façon plus approfondie les éléments de *Rossia macrosoma* Delle Chiaje, en se servant des termes de Milne Edwards. En 1913, Marchand reprend l'étude morphologique des spermatophores de nombreuses espèces dont il établit une clé de détermination systématique. Drew (1919) donne une description de l'appareil de *Loligo pealii* et de sa déhiscence.

Blancquaert, en 1925, décrit de nouveau le spermatophore de *Sepia officinalis*, en recherchant le mode de formation de ses différentes parties dans chaque portion du tractus génital.

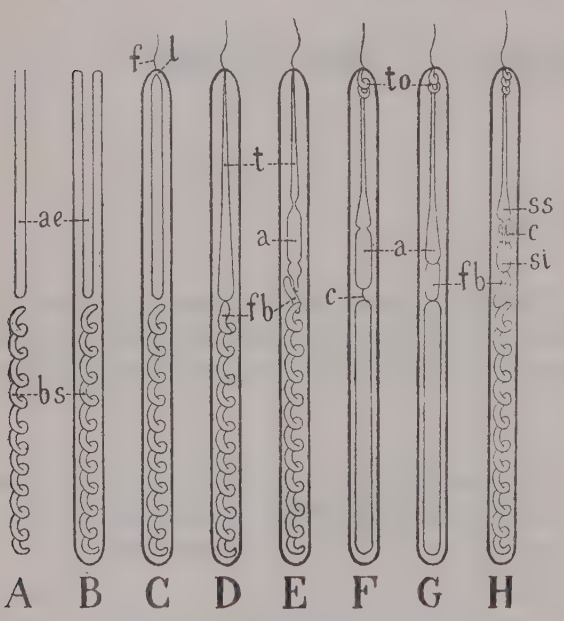


Fig. 61. Schémas de la formation des spermatophores de Céphalopodes. A. B. C., Formation des différentes parties du spermatophore. D. Appareil d'*Eledone moschata* et d'*Octopus vulgaris*. E. Appareil d'*Eledone cirrhosa*. F. Appareil de *Sepia et Loligo*. G. Appareil de *Rossia macrosoma*. H. Appareil de *Sepiola*.

Le spermatophore de *Sepiola atlantica* d'Orb. et le déterminisme nettement défini de sa dévagination ont été étudiés avec précision par Weill, en 1927.

En 1937, Fort reprend la description de l'appareil d'*Eledone cirrhosa* d'Orb. et examine son fonctionnement, en indiquant pour la première fois, le sort de l'appareil éjaculé chez cette espèce. Il a clarifié la nomenclature des auteurs en donnant la correspondance de leurs termes.

Toutes les recherches faites par les auteurs précités ont porté principalement sur la morphologie, l'origine, le mode de formation et le fonctionnement des spermatophores dans les conditions naturelles. Aucune d'entre elles n'a trait à la composition chimique de leurs constituants. De même, peu nombreux sont les auteurs qui ont abordé la recherche du comportement des spermatophores sous l'angle expérimental ; c'est pourquoi nous avons dirigé nos investigations vers ces côtés peu connus de la question. Nous verrons plus loin ce que l'on peut trouver à cet égard, dans les travaux des auteurs précités.

2) LES ESPÈCES ÉTUDIÉES.

Les Céphalopodes dont nous avons étudié les productions spermatiques sont parmi les plus communs sur nos côtes de France et d'Algérie. Ce sont, entre autres Décapodes :

Sepia officinalis L.
Sepia elegans d'Orb.
Loligo vulgaris Lam.
Illex Coindetii Ststp.
Rossia macrosoma Delle Chiaje.
Sepiola sp ? des côtes bretonnes de la Manche.

parmi les Octopodes :

Octopus vulgaris, Lam.
Eledone cirrhosa d'Orb. (1).
E. moschata Leach.

Nous avons poursuivi nos expériences sur les productions spermatiques soit au laboratoire Arago, à Banyuls, en juin-juillet, soit à Alger, au cours de l'année scolaire ; les animaux étant pris dans le port ou provenant de la pêche des chalutiers.

Ce sont les appareils de *S. officinalis* qui ont fait l'objet de nos recherches les plus suivies. Les mâles de cette espèce, faciles à se procurer à Alger, portent, en effet, toute l'année, des spermatophores en plus ou moins grand nombre, dans leur organe de Needham. Les spermatophores d'*E. cirrhosa* et d'*O. vulgaris* ont également été examinés de près, mais surtout à Banyuls au début de l'été.

Les autres espèces ont été obtenues en très petit nombre à l'état de maturité sexuelle et leurs appareils n'ont pas pu servir à de fréquents essais. En particulier, les spermatophores de *Sepiola*, recueillis en Bretagne, n'ont été utilisés, que pour vérifier leur comportement dans l'eau de mer, signalé par Weill.

Nous n'avons noté la proportion des sexes dans les exemplaires examinés que dans le cas des *Eledone* et d'*Octopus*, lors de notre séjour à Banyuls en 1937. Cette année, notre attention avait été attirée par la rareté des mâles d'*E. cirrhosa* ; entre le 2 et le 19 juillet, nous en avons rencontré 3 pour 47 femelles mûres et immatures. L'année précédente nous avions eu 11 mâles pour environ 40 femelles ; ces chiffres sont très différents de la proportion trouvée par Fort pour la même espèce dans le Bassin d'Arcachon (50 % de chaque sexe). Chez *E. moschata*, il y a, au contraire, plus de mâles que de femelles, (16 pour 5), mais aucun des exemplaires pêchés du 29

(1) C'est à tort que nous avons désigné cet *Eledone* sous le nom d'*E. Aldrovandi* (Rafin), sans avoir consulté l'ouvrage de Naef (1912). La note de Fort (1937) nous a permis de rectifier cette erreur.

juin au 16 juillet n'était à maturité sexuelle. Les *Octopus vulgaris*, pendant la même période, étaient en nombre équivalent pour chaque sexe.

3) Méthodes employées.

Les analyses microchimiques que nous avons faites sur les constituants des spermatophores ont été effectuées en employant les mêmes méthodes que sur les appareils de Pagures. La seule différence est que, après l'élimination des boyaux spermatiques, le produit de l'hydrolyse des parties anhistes des spermatophores de Céphalopodes a pu servir à des fins d'analyse, sans que les résultats puissent être faussés par la présence des gamètes mâles. Afin de se débarrasser des réservoirs à sperme, on plaçait les appareils dans l'eau distillée pour les faire éclater et on enlevait les boyaux au fur et à mesure de leur expulsion de l'étui. L'hydrolyse était alors effectuée sur l'ensemble des substances amorphes de l'appareil, à l'exclusion des liquides éliminés au cours de l'éclatement.

La recherche des groupements sucrés a pu être poussée plus loin sur les productions des Céphalopodes que sur celles des Pagurides ; nous indiquerons, en même temps que les résultats, les méthodes qui y ont conduit.

Dans l'étude du comportement des spermatophores placés dans les différents milieux d'expérience, nous avons procédé comme suit :

La poche de Needham du mâle était détachée, mise dans une boite de Petri pour éviter la dessiccation. Elle était fendue en long pour extraire les appareils rangés à l'intérieur. Ceux-ci étaient prélevés par petits paquets à l'aide de pinces et d'aiguilles, en coupant les filaments engagés plus loin au fond de l'organe. Cette précaution est nécessaire, pour ne pas déclencher la dévagination de la trompe des spermatophores de certaines espèces, dont la déhiscence est provoquée par une traction sur la ligature.

Quand les organes contenaient peu d'appareils (comme c'est le cas chez diverses formes), deux à six spermatophores seulement étaient utilisés dans chaque expérience, afin que le plus grand nombre d'essais soit fait avec les productions d'un même animal. Chez les Décapodes, dont les spermatophores sont plus nombreux, il en était prélevé 6 à 20 en général. Ils étaient ensuite transportés dans des verres de montre paraffinés ou de petites boites de Petri en verre neutre, contenant le liquide à examiner. Le contact des solutions avec les appareils était assuré en agitant le godet pour les décoller les uns des autres.

La durée des expériences était fixée à une heure, comme pour les Paguides, mais parfois il ne se produisait des modifications qu'au bout de deux heures ou davantage.

Les solutions utilisées ont été les mêmes que dans les expériences sur les Pagures, faites soit dans l'eau distillée, soit dans l'eau de mer. Les gaz sulfhydrique et ammoniac dissous dans l'eau ont agi par leurs solutions mêmes ou par les émanations dégagées par ces dernières imbibant un petit tampon de coton mis sous cloche au

dessus des appareils placés à sec ou en milieu aqueux. Les liquides expérimentés ont parfois été renouvelés au cours des essais. Si deux solutions devaient être appliquées successivement sur les appareils, un rinçage sommaire était fait avec un premier bain de la seconde liqueur, aussitôt remplacé par de la solution fraîche. L'action des divers milieux a été évaluée en comparant le spermatophore mis en expérience à des appareils restés dans le réservoir de NEEDHAM, ou à des témoins soumis à un autre agent.

Il existe des différences individuelles nettes dans le comportement des productions spermatiques de Céphalopodes dans les divers milieux d'expérience. Ces inégalités de réaction s'observent aussi entre les appareils provenant d'un même individu. A cet égard, il apparaît nettement que les spermatophores emmagasinés au fond de la poche de NEEDHAM réagissent, en général, tout à fait différemment de ceux qui sont extraits de la région voisine de l'orifice de sortie de cet organe. Leur déhiscence est retardée dans la majorité des cas, quand elle n'est pas complètement inhibée. Nous avons tenu compte de ce fait dans la plupart de nos essais, conduits à la fois sur des appareils provenant de chaque région. Certains auteurs ont aussi noté cette différence (MILNE EDWARDS, FORT) ; nous l'avons déjà signalée (1937). On peut penser qu'il s'agit d'un phénomène de « maturation » se produisant pendant le séjour du spermatophore dans l'organe de NEEDHAM. Mais il ne nous a pas été possible de déterminer en quoi consiste ce processus, et l'on ne peut que se livrer à des conjectures à cet égard. Nous pouvons indiquer, cependant, qu'il ne s'agit pas seulement d'une maturation « locale », comme le conçoit FORT lorsqu'il dit : « La « maturation » doit consister dans la disparition de ce bouchon » (bouchon gélatineux observé par l'auteur entre les valves de la ligature de certains appareils d'*E. cirrhosa*). C'est aussi un phénomène « général » qui atteint toutes les substances du spermatophore, comme le montre le retard dans l'*éclatement* des appareils du fond, par rupture de l'étui, indépendamment de la dévagination, qui dépend de la résistance du système de fermeture. On observe surtout chez les Octopodes ces variations de maturité, mais aussi chez les divers Décapodes, bien qu'à un degré moins accusé.

LE SPERMATOPHORE A L'ÉTAT STATIQUE.

1). MORPHOLOGIE GÉNÉRALE.

Le spermatophore de Céphalopode est un appareil complexe, composé entièrement de substances anhistes, à l'exclusion des spermatozoïdes, seuls éléments vivants qu'il renferme. Cette complexité a donné lieu à une nomenclature détaillée, variable avec les auteurs, dont nous ne retiendrons que les grandes lignes.

Pour comprendre plus facilement le spermatophore, on peut le faire dériver d'un type hypothétique simple, qui serait construit de la façon suivante :

Les spermies aussitôt libérées dans le canal déférent sont noyées dans un liquide visqueux, et se trouvent enfermées dans un long tube clos aux deux bouts. Ce tube, secrété par les parois du canal prend le nom de *boyau* ou *sac* ou *réservoir spermatique* (b.s.fig. 61 A). Il pourra rester droit, mais le plus souvent, il s'enroule en spirale et sa membrane est toujours très mince. Son extrémité antérieure va se souder au fond d'un tube plus large, également plein d'un liquide, et formé un peu plus loin par le canal déférent. Ce tube constituera l'*appareil éjaculatoire* ou *appareil de déhiscence* (a. e. fig. 61 A, B). Tout ce système va se trouver enfermé dans un troisième tube fermé en arrière, ouvert en avant, également plein de liquide. Ce tube, beaucoup plus épais et beaucoup plus résistant constitue l'*étui* (fig. 61 C). Puis, les bords antérieurs de l'étui et de l'appareil éjaculateur se soudent l'un à l'autre (fig. C). Cette zone de soudure s'aplatit en deux valves qui vont se trouver fermées par un ciment de manière à constituer la *ligature* (l. fig. C). Sur celle-ci s'attache un filament mince, élastique : c'est le *filament de la ligature* (f. fig. C, D).

Le spermatophore est alors entièrement constitué. Il est donc formé de trois tubes : deux internes, le boyau spermatique contenant les gamètes ; l'appareil éjaculatoire ; et un externe, l'étui. Ce dernier porte en avant la ligature et son filament, qui obture tout le système. Trois liquides fondamentaux remplissent : l'un le boyau spermatique et baignant les spermies, le deuxième remplissant l'appareil éjaculateur, le troisième logé dans l'étui et entourant à la fois le boyau spermatique et l'appareil de déhiscence.

On ne trouve chez aucune espèce un spermatophore aussi simple. Il se complique de diverses manières que l'on peut sérier de la façon suivante :

Chez *Eledone moschata* et *Octopus*, l'appareil éjaculatoire s'effile en avant, s'élargit un peu en arrière. Sa partie postérieure à proximité du réservoir spermatique demeure étroite et sa cavité s'oblitère. Elle se transforme ainsi en un *faux-boyau* (f. b. fig. 61 D) plein, relié au boyau spermatique vrai et contourné comme lui.

Chze *E. cirrhosa* l'appareil de déhiscence reste étroit et cylindrique en avant pour constituer la *trompe* (t. fig. 61 E) et se dilate en arrière en une *ampoule* (a. fig. E) suivie par le faux-boyau, plein comme précédemment, et prolongé par le boyau spermatique.

Chez *Loligo* et *Sepia*, l'appareil éjaculatoire comporte également une trompe antérieure (t. fig. 61 F) mais elle s'enroule en spirale sous la ligature pour donner le *tortillon* (to. fig. F). En arrière, l'appareil fournit une ampoule dilatée, précédée d'un petit renflement conique et remplie, dans sa région postérieure, par une substance visqueuse.

Chez *Rossia*, la disposition générale est la même, avec trompe, tortillon et ampoule. Mais celle-ci, étranglée en son milieu, donne en avant le sac et en arrière le faux-boyau plein.

Chez *Sepiola*, la trompe donne, en avant, le tortillon, en arrière, d'abord, séparé par une petite constriction, le *sac supérieur* (s.s. fig. 61 H), puis le *sac inférieur* (s. i.

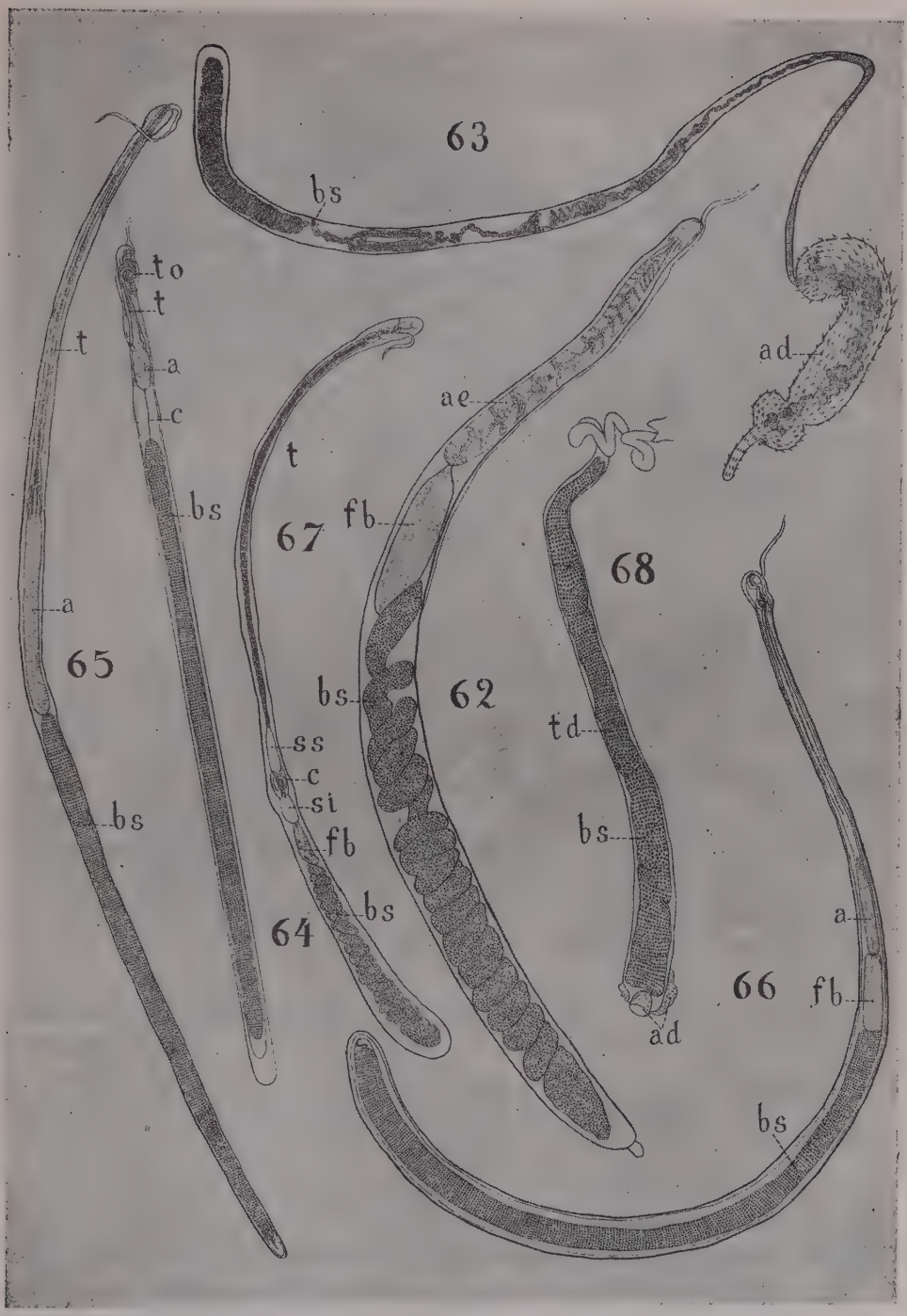


Fig. 62. Spermatophore d'*Eledone moschata*.

Fig. 63 Spermatophore d'*Eledone cirrhosa*, avec son spermatange.

Fig. 64. Spermatophore de *Sepia officinalis*.

Fig. 65. Spermatophore de *Loligo vulgaris*.

Fig. 66. Spermatophore de *Rossia macrosoma*.

Fig. 67. Spermatophore de *Sepiola atlantica* (d'après Weill, un peu modifié).

Fig. 68. Spermatange de *Sepia officinalis*.

Lettres communes aux figures 62 à 68.

a = ampoule ou sac.
ad = ampoule dévaginée.
ae = appareil éjaculatoire.
bs = boyau spermatique.
c = connectif.
e = étui.
fb = faux-boyau.
si = sac inférieur.
ss = sac supérieur.
t = trompe.
to = tortillon.
td = trompe dévaginée.

fig. 61 H) séparé du premier par un *connectif* (c. fig. H), enfin, tout en arrière, vient le faux-boyau en contact avec le boyau spermatique.

Sous le nom de *connectif* les auteurs ont désigné dans le spermatophore des diverses espèces, des formations non homologues. Dans le spermatophore d'*E. cirrhosa*, FORT appelle ainsi la constriction qui sépare la trompe de l'ampoule. Chez les *Loligo* et *Sepia*, MILNE EDWARDS, puis BLANCQUAERT désignent sous ce nom le petit cordon qui relie le boyau spermatique à l'ampoule en avant. Pour RACOVITZA c'est le rétrécissement qui sépare l'ampoule du faux-boyau dans l'appareil de *Rossia*, tandis que WEILL le place entre les deux parties de l'ampoule.

L'étui est formé, en général, de trois tuniques :

La tunique externe, de consistance cornée, transparente, d'une minceur à peu près constante, sauf aux extrémités épaissies.

La tunique moyenne, épaisse, de substance granuleuse, spongieuse et élastique.

La tunique interne, membrane mince et molle qui tapisse la précédente, visible lorsque le boyau est sorti de l'étui.

Chez *E. cirrhosa*, l'étui ne comprend qu'une tunique de consistance cornée et transparente.

L'appareil éjaculatoire est aussi formé de plusieurs enveloppes, ou *membranes*, superposées, délimitant le *canal axial*.

Dimensions des spermatophores. — Elles sont très variables selon les espèces, et, dans une même espèce, elles diffèrent suivant la taille des individus. Aussi, contrairement à l'opinion de MARCHAND (1912), de RUSSELL (1921) et de WEILL, la longueur des spermatophores ne nous paraît pas pouvoir être considérée comme un caractère spécifique constant. Nous avons même pu observer, en particulier chez certains exemplaires d'*E. cirrhosa*, des spermatophores de deux tailles différentes.

Les appareils de *S. officinalis* mesurent 9 à 13 mm. environ, pour un diamètre de 300 à 400 μ. L'appareil éjaculatoire occupe à peu près le 1/5 de la longueur.

Les productions de S. *elegans ont* 5 à 8 mm et les mêmes proportions.

Celles de *Loligo vulgaris* ont environ 26 mm., le réservoir en occupant 15 à 16 mm. Chez *Illex* les proportions sont semblables.

Le spermatophore de *Rossia macrosoma* a 20 mm., dont les deux tiers sont occupés par le sac spermatique.

Chez *Sepiola atlantica*, il mesure 8 mm. 2, d'après WEILL.

Les dimensions sont beaucoup plus grandes dans l'ordre des Octopodes que dans celui des Décapodes. Les appareils d'*E. cirrhosa* ont 50 à 70 mm., pour un diamètre externe un peu moins élevé dans les exemplaires examinés par nous à Banyuls (0mm.5 à l'extrémité orale et 1mm. 7 à 2 mm. postérieurement) que ne l'indique FORT pour les *Eledone* provenant d'Arcachon (1mm à 1mm. 5 et 3 mm respectivement). Le boyau spermatique occupe environ le tiers du spermatophore. Ceux d'*E. moschata* ont 20 mm. de longueur.

Chez *O. vulgaris*, la longueur varie beaucoup avec la grandeur du mâle ; elle va de 40 à 55 mm. en moyenne, pour une largeur maximum de 0,5 à 1 mm. environ. L'appareil de déhiscence mesure près de la moitié de la longueur totale.

En revanche, le nombre des spermatophores mis en réserve dans une même poche de NEEDHAM est d'autant plus faible que les dimensions du spermatophore sont grandes par rapport à la taille de l'espèce qui les produit. Certains Décapodes ont de nombreux appareils emmagasinés à la fois (100 à 200 chez *Loligo*, 200 ou 300 chez *Sepia*), tandis que les *Sepiola* en ont moins de 40 et les *Rossia* une soixantaine (RACOVITZA). Les Octopodes, dont les appareils sont grands, les accumulent aussi moins nombreux (30 à 90 chez *Octopus*, parfois moins de 20 ; 25 à 30 chez *E cirrhosa*).

L'examen des spermatophores à la lumière réfléchie montre qu'ils sont entourés d'une enveloppe transparente. Le boyau spermatique est opaque et blanc, l'appareil de déhiscence est un peu opaque et jaunâtre.

L'examen fluoroscopique à la lumière de WOOD des spermatophores d'*Octopus* frais permet d'observer une fluorescence violacée du réservoir à sperme et une fluorescence plus vive de l'appareil éjaculatoire, surtout à son extrémité antérieure, où elle est un peu plus rougeâtre. Le filament est nettement rougeoyant. Sur des spermatophores d'*O. vulgaris* et de *Sepia* conservés dans du formol à 3 %, on peut faire les mêmes observations. L'étui n'est fluorescent ni sur le frais, ni fixé.

Ce comportement à la lumière de WOOD est à rapprocher, entre autres, des phénomènes décrits par HADJIOLOFF (1929) au niveau des couches supérieures du derme de la grenouille ; de ceux décrits par TURCHINI et BROUSSY (1932) au niveau de divers phanères épidermiques ; par BROUSSY, (1932) dans les formations glandulaires sécrétantes du gésier des Oiseaux, par POLICARD et PAILLOT (1925) dans la fibroïne de la soie. Il faut noter, toutefois, une différence dans la couleur des fluorescences signalées par ces auteurs : elles sont blanc nacré, jaunes, ou violacées.

Examinés en lumière polarisée, les appareils de *Sepia*, *Loligo* et *Eledone* révèlent une biréfringence de la région externe de l'étui. L'ampoule éjaculatoire chez *Sepia* et *Loligo* a la même propriété, à l'inverse des autres parties.

Pression à l'intérieur du spermatophore.

Une forte pression règne à l'intérieur de l'étui. RACOVITZA (1894, p. 519) et FORT (1937, p. 368) l'ont constatée dans les spermatophores de *Rossia macrosoma* et d'*Eledone cirrhosa*. WEILL (1927) cependant nie son existence chez *Sepiola*, avant l'imbibition des appareils par l'eau. On peut toutefois, se rendre compte qu'elle existe par la force avec laquelle le boyau spermatique est projeté au dehors de l'enveloppe externe lorsqu'on la rompt à sec en un point quelconque. Après cette expulsion, l'appareil de déhiscence se détend et s'allonge vers le bout postérieur du spermatophore. Il était donc comprimé. Dans l'eau de mer, l'étui, une fois vidé de son contenu, se rac-

courcit de 12 à 14 % de sa longueur primitive. RACOVITZA observe une semblable diminution du volume, mais WEILL, par contre, n'obtient aucune différence dans ses mesures du diamètre des spermatophores de *Sepiola*, avant et après leur dévagination.

La pression interne résulte de la compression des différentes parties du spermatophore à l'intérieur de l'étui, lui-même un peu élastique.

Le boyau spermatique se détend comme un ressort, chez *Sepia*, par exemple, dès qu'une ouverture lui permet de sortir, et, dans le milieu externe, s'allonge et s'élargit beaucoup.

Après l'expulsion du réservoir, la trompe de l'appareil de déhiscence se déroule et s'étend vers le fond de l'étui. L'ampoule s'allonge un peu.

La tunique moyenne de l'étui (quand elle existe) est la partie la plus comprimée. Elle se dilate quand le réservoir est sorti et remplit alors toute la cavité postérieure.

Valeur du pH des différentes parties du spermatophore et du tractus génital.

Les mesures ont été prises surtout sur les appareils de S. *officinalis*, mais ceux des autres espèces fournissent des données du même ordre. Les tractus génitaux des différentes formes présentent à peu près les mêmes valeurs du pH sur leur trajet.

Ce pH a été évalué à l'aide des indicateurs colorés suivants : le rouge de méthyle, le bleu de bromothymol et le bromocrésol pourpre. Pour le mesurer dans les voies génitales nous avons ouvert celles-ci et déposé une goutte de colorant sur la paroi interne du canal. Pour l'évaluer sur le spermatophore nous avons placé celui-ci sur lame, dans l'indicateur pur ou dilué de moitié dans l'eau de mer. Le pH du liquide qui se trouve autour du réservoir spermatique a été obtenu de deux façons : 1° en coupant le spermatophore dans l'indicateur à la neutralité ou un peu alcalin ; 2° en colorant l'appareil entier, puis en le plaçant dans l'eau de mer soit légèrement alcalinisée, soit, au contraire, acidifiée, et en le coupant. Le liquide coloré s'écoule et sa couleur est discernable et vire sur les bords, dans l'eau de mer incolore. Le pH du mucus entourant les spermatozoïdes est mesuré en ouvrant le boyau dans le colorant ; ce dernier vire en diffusant entre les spermies.

Les résultats obtenus montrent que ces appareils sont constitués par des substances acides, formées dans des voies génitales acides, Ils sont mis en réserve dans un milieu encore plus acide à l'intérieur de la poche de NEEDHAM.

Le tableau XVIII indique, pour les spermatophores et les conduits déférents de quelques espèces, les valeurs moyennes des données recueillies lors de nombreuses mesures.

Les pH des différents organes changent peu d'un individu à l'autre ; les variations observées sont surtout sensibles dans un même organe suivant les régions. C'est ainsi que la poche de NEEDHAM est plus acide du côté de l'orifice de sortie que dans sa partie postérieure et que le pH des diverses portions du tractus varie le plus souvent de 1 à 3 décimales, selon les points considérés.

TABLEAU XVIII.

pH des différentes parties du spermatophore et du conduit génital de quelques Céphalopodes.

	Région de l'appareil	*Sepia officinalis*	*E. cirrhosa*	*E. moschata*
Spermatophores	Filament et ligature	6,4 ; 6,6	6,0 ; 6,6 ; 7	6,4 ; 6,6
	Etui (antérieur)	6,6	6,6 ; 6,8	6,2
	Etui (postér.)	6,0	6,0 ; 6,1	5,9
	Appareil éjaculatoire	6,4 ; (trompe) 6,8 ; (sac)	6,4 ; 6,9 ; 7,0	6,6 (trompe) 6,6 (sac)
	Mucus autour du réservoir	5,8	5,8	5,9
	Mucus dans le réservoir	6,4		6,0 ; 6,3
				O. Vulgaris
Conduit génital	Canal déférent proximal	5,8 à 6,2	5,9 à 6,1	6,2 ; 6,3
	Vésicules séminales	5,8 à 6,4	5,9 à 6,1	5,8 à 6,1
	Glande accessoire	5,9 6,2	5,9 ; 6,0	5,8 à 6,1
	Canal déférent distal	6,1 ; 6,3	6,1 ; 6,3	5,9 à 6,2
	Poche de NEEDHAM fond	5,4 à 5,8	5,8 à 6,0	6,1
	sortie	6,0 à 6,4	6,0 ; 6,1	6,3

2) La composition chimique des spermatophores.

Nous avons recherché la nature des constituants des spermatophores de la plupart des espèces dont nous ayons pu disposer. Les résultats obtenus concordent chez toutes. Nous les exposerons sans faire de distinctions entre elles.

Les essais de caractérisation ont été effectués sur les spermatophores entiers ou hydrolysés.

I. *Examen direct du spermatophore entier dans les réactifs.*

Les réactions fondamentales des protides (biuret, Millon, xanthoprotéique) sont toutes trois positives sur toutes les parties des appareils. Les trois réactifs décèlent, en outre, des variations quantitatives des molécules constitutives, selon les régions considérées.

Les principales réactions dénotant la présence de complexes glucidiques (Molisch, thymol-acide sulfurique), sont aussi positives sur toutes les parties des appareils. Elles permettent d'apparenter les substances des spermatophores aux glucoprotides.

2. *Hydrolyse des substances à analyser.*

Après avoir fait éclater les appareils, on peut aisément effectuer l'hydrolyse des parties anhistes des spermatophores de Céphalopodes, en éliminant les boyaux spermatiques qui contiennent les spermies. Nous n'avons pas essayé d'isoler le système éjaculatoire, à cause de la difficulté qu'il y a d'en séparer complètement les étuis et d'obtenir des quantités suffisantes de matériel à hydrolyser.

Hydrolyse acide et alcaline.

Les substances sont rapidement lysées à froid dans les acides et les bases concentrées. A chaud on obtient la dissolution complète, en un temps variable, dans les acides et alcalis dilués.

Hydrolyse enzymatique.

Elle n'a été opérée que sur les spermatophores de *Sepia officinalis* et d'*Illex coindetii*, dans les solutions digestives établies d'après les formules de de Waele (voir. p. 10).

La solution gastrique, que ce soit à 14 ° ou à 37°, ne digère pas directement les substances de l'appareil spermatique. Le mélange pancréatique (contenant 0 gr. 1 de trypsine, 0 gr. 5 de CO^3NaH pour 100 cc. d'eau physiologique) à pH 8 et à 37°, digère l'étui, le réservoir et souvent le sac, mais laisse le bas de la trompe (parfois le sac) encore entier. Le mélange trypsine-bile donne les mêmes résultats à pH 7,5 et 37° en 7 à 15 jours, environ. A 14° il n'y a qu'un début d'attaque par l'enzyme.

Si on traite pendant 20 à 48 heures les appareils par le mélange gastrique et fait agir ensuite la digestion trypsique à 37°, la protéolyse complète des spermatophores

de *Sepia* et d'*Illex* s'effectue, en 3 à 7 heures. Il en est de même et aussi rapidement dans le mélange trypsine-bile utilisé après la pepsine. Les spermatophores de ces deux Décapodes réagissent presqu'identiquement ; on peut noter seulement un retard dans la digestion de l'appareil de déhiscence d'*Illex*, qui résiste, bien qu'il soit fragmenté par l'action diastasique, à toute attaque trypsique non préparée par la pepsine.

3. *Analyse des constituants du spermatophore.*

A. *Le groupement protidique.*

On peut mettre en évidence la présence de quelques acides aminés dans le groupement protéique des substances glucoprotéidiques du spermatophore.

La réaction de MILLON, surtout vive sur l'appareil de déhiscence, indique qu'il y a des noyaux phénoliques, dont celui de la tyrosine ; la réaction de MOERNER, bien qu'elle soit faible, confirme cette donnée. La diazoréaction, que nous avons effectuée avec l'acide sulfanilique, décèle aussi les groupements phénoliques. La réaction chromaffine, positive seulement sur l'appareil éjaculatoire, y indique la présence de polyphénols, ou d'aminophénols ou de polyamines en position ortho ou para.

La réaction xanthoprotéique montre qu'il existe des groupements cycliques dont celui de la phénylalanine, autre acide monobasique monaminé. Cette présence est confirmée par la réaction de KAPELLER-ADLER, que nous avons modifiée comme il est indiqué p. 12.

Le tryptophane, acide aminé hétérocyclique est aussi caractérisé par la réaction xanthoprotéique et confirmée par toutes les autres méthodes qui servent à le mettre en évidence : celle d'ADAMKIEWICZ modifiée par HOPKINS et COLE, par FURTH et LIEBEN ; celle de LIEBERMANN ; celle au glucose-acide chlorhydrique. Cette dernière donne une coloration surtout intense dans la région moyenne de l'appareil de déhiscence du spermatophore de *Loligo*.

L'histidine, autre composé hétérocyclique, n'a pu être révélée par aucune réaction spécifique.

L'arginine, acide monobasique diaminé est présent dans le spermatophore et est décelé par les réactions de SAKAGUSHI et de NORRIS et HARDEN.

On met en évidence la présence de groupements soufrés par la réaction à l'acétate de plomb.

Les formes oxydées solubles du soufre sont révélées après avoir opéré leur réduction à l'aide du cyanure de potassium, par le nitroprussiate de soude. On obtient la réaction des groupements SH fixes de la cystéine en opérant la réaction au nitroprussiate après démasquage par l'acide trichloracétique : la coloration est faible et dénote peu de cystéine dans les molécules. En réduisant les groupements fixes de la cystine par CNK après avoir éliminé les formes solubles, on obtient une coloration plus forte par le nitroprussiate de Na.

Les autres réactions de la cystine et de la cystéine sont aussi positives.

On trouve donc à la fois dans les substances des spermatophores de Céphalopodes

des composés S-S solubles, comme le glutathion oxydé, à côté de groupements sulfhydrilés fixes, comme la cystéine, ainsi que sa forme oxydée, la cystine.

Ces composés thioaminés et leurs dérivés oxydés sont présents partout, sauf dans le filament ; leur quantité est variable suivant les parties considérées : très abondants dans l'appareil éjaculateur, surtout à la partie postérieure du sac, ils le sont moins dans l'étui et le liquide entourant le réservoir spermatique (celui-ci est toujours le plus coloré par suite de la présence des spermies). Le liquide autour de l'appareil de déhiscence, par contre, contient très peu de composés du soufre, car il est à peine teinté.

En définitive, le groupement protidique des protéines conjugées des substances du spermatophore contient les acides αaminés suivants, en quantités variables selon les régions : la phénylalanine, la tyrosine, l'arginine, le tryptophane, les acides thioaminés, cystine et cystéine, fixées aux protides et la forme soluble du tripeptide qu'est le glutathion, sous sa forme oxydée.

B. *Le groupement prosthétique.*

La nature du groupement prosthétique des glucoprotéides qui constituent les spermatophores de Céphalopodes a pu être caractérisée dans la plupart des substances qui les composent : il s'agit d'esters sulfuriques de polyholosides voisins de ceux qui entrent dans la constitution des mucoprotéides.

Les différentes parties du spermatophore sont, en effet, chromotropes et prennent la teinte métachromatique des colorants appropriés (thionine, bleu de toluidine, safranine).

Cependant la coloration n'est pas uniformément répartie dans les diverses régions.

Le mucus autour des spermies ne se colore pas, non plus que la membrane qui les entoure.

La tunique externe mince de la coque et le filament antérieur se teignent métachromatiquement, mais perdent leur coloration dans le sirop d'Apathy, après un temps variable, dépassant plusieurs jours ; ils restent bleu très pâle dans les préparations conservées longtemps.

Les autres tuniques de l'étui et les liquides internes sont fortement chromotropes, en particulier la couche granuleuse moyenne. L'appareil de déhiscence l'est également, sauf dans sa partie centrale visqueuse, qui ne se colore pas.

Nous n'avons pu déterminer la nature de l'ester sulfurique contenu dans ces substances, ni les identifier aux acides mucoïtine ou chondroïtine-sulfuriques par les méthodes de Schmiedeberg et de Levene, faute d'avoir assez de matériel pour effectuer les analyses successives. Nous rappelons qu'il n'y a d'actuellement connus chez les animaux que l'acide chondroïtine-sulfurique, chez les Vertébrés seulement, et l'acide mucoïtine-sulfurique présent chez les Invertébrés.

Les substances qui ne se colorent pas par la thionine (boyau spermatique et ma-

tière à l'intérieur du sac) ne sont pas de même nature glucoprotéidique. Nous n'avons pu les identifier.

La décoloration, après quelque temps, de la couche extérieure de l'étui, ainsi que du filament est-elle l'indice d'une absence de dérivé estérifié d'un polyoside ? ou dénote-t-elle seulement une différence de proportion de ce dernier dans le complexe glucoprotéidique ? Il est possible aussi qu'il s'agisse d'un ester sulfurique d'un polyholoside de poids moléculaire moins élevé (Lison a montré en 1935, en effet, que le pouvoir chromotrope de ces corps était d'autant plus fort que le poids moléculaire du polyoside estérifié était plus grand).

Il a, toutefois, été possible de préciser, sur le produit de l'hydrolyse, que nous étions en présence de glucides réduisant la liqueur de Fehling, et qui, de ce fait, possédaient l'une des fonctions aldéhydique ou cétonique.

La réaction de Seliwanoff (voir p. 16) permet de dire que ce n'est pas un sucre cétonique, d'après la coloration rose pâle que prend le produit de l'hydrolyse des spermatophores. On peut encore indiquer qu'il s'agit d'un hexose, par la réaction à l'orcine, dans HCl, qui donne une coloration orangée, et par celle au βnaphtol dans l'acide sulfurique qui fournit un anneau vert-brun en agissant sur le liquide d'hydrolyse. Cependant, l'osazone que nous avons pu obtenir par la méthode indiquée pour *E. prideauxi*, p. 17, ne cristallise pas comme la glucosazone. Il s'agirait d'autres groupements glucidiques que la glucosamine, qui, elle, donne de la glucosazone.

Il résulte de ces données que les spermatophores des Céphalopodes étudiés sont composés de protéines conjuguées. Leurs groupements prosthétiques sont pour la plupart formés de glucides estérifiés par l'acide sulfurique : les autres n'étant pas déterminés, ils fournissent à l'hydrolyse un hexose réducteur, aldéhydique qui n'a pu être identifié. Ces protéines s'apparentent donc de très près aux mucines et aux chondroïdes. Elles en possèdent certains caractères physiques, mais ne sont pas aussi solubles que ces derniers dans les alcalis dilués employés à froid. Leur consistance est voisine de celle de beaucoup de glucoprotéides qui existent chez les Vertébrés (cornée, tissu conjonctif muqueux et cartilagineux, parois artérielles et autres). Elle diffère de celle des divers mucus fluides.

Par ailleurs, on ne peut pas rattacher les constituants des spermatophores directement à telle ou telle scléroprotéine connue chez les Vertébrés ou Invertébrés.

D'un autre côté, la nature des acides αaminés reconnus dans le groupement protidique rapproche ces constituants des kératines de Vertébrés et de la sérıcine de la soie.

CHAPITRE II

Le Spermatophore à l'état dynamique.

Les spermatophores de Céphalopodes, comme ceux des Pagurides, restent normalement inertes à l'intérieur de la poche de NEEDHAM, où ils sont emmagasinés. Ils y supportent, comme nous venons de le voir, des conditions définies d'acidité, de viscosité, de pression osmotique, qui peuvent jouer, à divers degrés, un rôle dans leur fonctionnement.

Lorsque, dans la nature, ils sont expulsés par le mâle qui les a formés, ils passent dans un milieu très différent, constitué par l'eau de mer, subissent des tiraillements et des chocs et leur ouverture se produit. Nous allons examiner sous quelle forme elle se fait, et quels sont les facteurs qui la provoquent.

1) LES MÉCANISMES DE LA DÉHISCENCE DES SPERMATOPHORES.

L'examen du spermatophore à sa sortie de l'organe de NEEDHAM montre que son ouverture peut s'effectuer de deux façons distinctes :

1° par un processus de dévagination de l'appareil éjaculatoire,

2° par la rupture de l'étui en un point quelconque.

Déhiscence par dévagination.

Nous avons vu que l'appareil éjaculatoire était une formation tubulaire invaginée dans l'étui. Dans certaines conditions ce tube sort à l'extrémité antérieure du spermatophore, en se retournant comme un doigt de gant, et forme un prolongement extérieur de l'étui (fig. 68). Le boyau spermatique est déplacé de sa position primitive au fond de l'étui, vers ce tube externe au bout duquel il va s'accumuler (fig. 68 b.s.). Le tube dévaginé, contenant les spermies, forme ce que WEILL et RACOVITZA appellent un *réservoir spermatique de second ordre* et FORT un *spermatange*, terme que nous adopterons après lui. Ensuite, la rupture de la trompe un peu au-dessus de l'étui isole le spermatange qui reste ouvert à cet endroit, ce qui permet au sperme de s'écouler.

Cette dehiscence est bien connue chez les Céphalopodes. Nous en indiquerons les principales étapes.

Déclenchement de la déhiscence. — La dévagination des appareils spermatiques débute par la rupture du ciment qui ferme l'orifice de la trompe invaginée. Deux mécanismes peuvent intervenir séparément ou simultanément pour provoquer cette rupture.

a) L'imbibition d'eau des substances des bords externes de l'invagination et de la ligature qui les retient collés. Il en résulte une diminution de résistance en cet endroit. L'imbibition simultanée de toutes les autres parties du spermatophore augmente la pression dans l'appareil fermé. Sous ces deux influences, les valves de fermeture du système s'écartent et la dévagination s'amorce.

L'imbibition est le facteur principal de la déhiscence des spermatophores d'Octopodes et de *Sepiola*, parmi les Décapodes. WEILL a établi que le gonflement seul était la condition nécessaire et suffisante pour déterminer la dévagination des appareils de cette dernière espèce.

b) La traction mécanique sur le filament situé d'un côté de l'extrémité du spermatophore provoque l'écartement des valves de la fermeture et la rupture de la ligature. La pression interne suffit alors pour faire sortir la trompe. L'imbibition joue aussi un rôle, mais elle n'est pas nécessaire, car la dévagination se produit aussi bien quand on a placé les appareils extraits de la poche de NEEDHAM, à sec sur une lame, et tiré sur le filament terminal. Le premier, MILNE EDWARDS a constaté que la dévagination des appareils peut très bien se faire dans l'air (sauf après dessiccation, cependant). RACOVITZA relève le même fait. C'est le mode de déclenchement qui fonctionne chez la plupart des Décapodes.

Chez les Sepiidæ et les Loliginidæ, l'imbitition intervient rarement seule ; chez *Rossia*, parmi les Sepiolidæ, elle agit au bout d'un certain temps ; tandis que chez *Sepiola*, non seulement elle est efficace seule, mais la traction sur le filament ne déclenche rien (WEILL) ; il en est de même pour les spermatophores des Octopodes en général..

Formation d'un spermatange. — Le retournement de la trompe, une fois amorcé, ne s'arrête pas avant d'être terminé, sauf si l'on fait agir certains milieux coagulants (1). Il se produit plus ou moins vite, suivant les espèces, les individus ou les appareils, au cours de la dévagination ; on note même des vitesses différentes dans les phénomènes qui se succèdent, comme l'ont remarqué WEILL et FORT (la trompe,

(1) WEILL provoque l'arrêt des dévaginations des spermatophores de *Sepiola* par le formol à 6 %, et ceci à n'importe quel moment du processus de retournement de l'appareil de déhiscence. Chez *Sépia*, nous avons vérifié ce blocage dans les solutions contenant plus de 1 % de formol commercial à 40 %. Au dessous de ce taux les éclatements ont lieu.

par exemple, sort plus vite que l'ampoule et le boyau chemine plus ou moins rapidement selon les moments).

La dévagination se poursuit jusqu'à un niveau de l'appareil éjaculatoire qui varie selon la structure du spermatophore considéré.

Chez les *Sepia* et *Loligo*, le renversement va jusqu'à l'ampoule comprise. Cependant, celle-ci ne se dévagine fréquemment que dans sa partie conique, dont la substance axiale adhésive s'écoule pour fixer l'appareil à une surface quelconque. Dans ce cas, la région postérieure de l'ampoule reste à l'intérieur du spermatange dont la paroi est constituée par la trompe dévaginée et distendue. D'autres fois, si l'ampoule se retourne complètement, sa substance axiale postérieure s'étale à la surface de l'extrémité du tube dévaginé. Le boudin spermatique est poussé dans la trompe au fur et à mesure qu'elle se retourne, sous l'impulsion de la pression de la tunique moyenne, accrue par imbibition d'eau. Il s'accumule en paquet pelotonné au fond du spermatange.

Bientôt le tube se rompt au-dessus de l'étui et reste ouvert en arrière. Les spermatozoïdes, libérés du boyau éclaté, sortent par cet orifice, poussés par le gonflement du liquide interspermatique, comme l'indique Weill. Ils sont expulsés peu à peu, mais peuvent vivre, inertes, dans le spermatange déposé sur la femelle jusqu'à l'émission des produits génitaux de celle-ci.

La dévagination de l'appareil de déhiscence du spermatophore de *Rossia* se fait jusqu'au faux-boyau exclus. Le spermatange qui en résulte est formé par la partie antérieure, creuse, de l'ampoule, renflée en massue, où s'emmagasine le boyau des spermies, précédé par le faux-boyau. La substance axiale adhésive contenue dans l'ampoule s'étale sur sa surface devenue externe. L'isolement du spermatange se fait par la rupture de la trompe à une petite distance de l'étui vide. Il en est de même, à peu près, chez *Sepiola* dont l'appareil éjaculatoire se retourne jusqu'au connectif. Le sac inférieur (Weill) ne se dévagine pas et double intérieurement la paroi du spermatange où s'accumulent successivement le faux-boyau et le boyau spermatique, ainsi que le cordon postspermatique qui existe chez cette espèce.

Le spermatange des Octopodes est formé par l'ampoule dévaginée, comme toujours ; c'est un simple tube peu renflé, chez *Octopus* et *E. moschata*, mais fortement dilatable en plusieurs boursouflures chez *E. cirrhosa*. Le boyau de sperme, précédé du faux-boyau, remplit la cavité de ce nouveau réservoir. Il n'y a pas de substance adhésive qui se répande sur sa surface externe. L'étui vide se sépare par rupture en un point de la trompe (le connectif de Fort chez *E. cirrhosa*) et la sortie des spermatozoïdes s'opère par là.

Déhiscence par rupture de l'étui.

Il arrive que la ligature du spermatophore ne soit pas le point qui cède le premier lors de l'imbibition des substances de l'appareil par l'eau. C'est le cas, en particulier, pour les spermatophores, qui ne sont pas tout à fait mûrs. On observe alors la rupture

de l'étui, qui éclate en un point quelconque, moins résistant, pour une raison inconnue. La pression interne provoque l'*éclatement* du spermatophore, le réservoir spermatique étant projeté hors de l'enveloppe et l'appareil éjaculateur se distendant lors de la décompression qui se produit. Même quand le boyau spermatique est très long, comme chez *Octopus*, il se déroule néanmoins entièrement.

Cette ouverture par éclatement s'observe dans l'eau de mer seulement sur les spermatophores de *Rossia* (après un long moment) parmi les Décapodes, et sur ceux des Octopodes (rapidement).

2) Dehiscence expérimentale.

Les recherches pour provoquer ou modifier expérimentalement la déhiscence en faisant varier les conditions du milieu externe ont été peu nombreuses.

Racovitza (1894), Weill (1927) et Fort (1937) ont démontré la grande perméabilité des substances du spermatophore par des expériences de dessication ou de déshydratation par la glycérine ou l'alcool, suivies de réhydratation. La longueur des spermatophores diminue lors de cette perte d'eau. Nous avons également constaté une diminution de longueur sur les appareils de *S. officinalis*, de l'ordre de 15 à 25 %, lors du séjour dans l'alcool. Fort montre l'accroissement de perméabilité de l'appareil d'*E. cirrhosa* qui éclate dans l'eau douce. Drew (1911) modifie l'imbibition et partant, la vitesse de déhiscence des spermatophores de *Loligo* par addition de chlorure de magnésium au milieu où ils sont immergés.

Nous avons repris ces expériences fragmentaires et tenté de compléter l'étude de la physiologie du spermatophore en les soumettant à des milieux variés.

Modifications expérimentales du milieu.

1. *Rôle du pH des solutions.*

L'acidité du milieu où les spermatophores sont tenus en réserve chez les mâles est telle que l'on pouvait penser qu'elle était un des facteurs principaux du blocage des déhiscences avant l'émission des appareils spermatiques dans le milieu extérieur. Nous avons essayé de le démontrer et aussi de déterminer si les ions alcalins avaient un effet opposé.

Action des ions H^+.

C'est surtout l'acide chlorhydrique à différentes concentrations qui fut expérimenté sur les appareils des diverses espèces. Parfois, nous avons aussi utilisé les acides sulfurique, nitrique, acétique, et oxalique à 0,25 %, ainsi que l'acide carbonique de l'eau de Seltz.

Les résultats diffèrent nettement dans les deux ordres des Céphalopodes ; mais, dans chacun, varient peu d'une espèce à l'autre.

Décapodes. — Nous n'avons fait intervenir les solutions acides que sur les spermatophores de *Sepia officinalis* et de *Loligo vulgaris*.

Déhiscences. — Les spermatophores des deux espèces n'éclatent pas dans les acides. Chez *Sepia*, on observe parfois quelques éclatements dans HCl à N/1000 ou NO^3H.

Gonflements. — Le spermatophore varie quelque peu de volume lorsqu'il est placé dans les milieux à acidité plus grande que N/1000. Sa longueur diminue, notamment, mais chaque partie à l'intérieur de l'étui ne varie pas dans le même sens : le réservoir spermatique se raccourcit en s'élargissant (la tunique moyenne se trouve comprimée par cette dilatation). Dans l'acide N/100 l'appareil éjaculatoire, surtout le sac dans sa partie postérieure, s'allonge jusqu'à augmenter de 30 % de sa longueur dans l'eau de mer. Les données relatives à ces modifications des dimensions aux différentes concentrations acides sont indiquées dans le tableau XIX. On voit que c'est dans la solution centinormale, comme nous l'avons aussi constaté pour les spermatophores de Pagurides, que se produit le maximum d'allongement du sac antérieur. Dans certains cas on observe également un autre maximum d'élongation pour une concentration de 50 % d'acide pur.

La pression intérieure des spermatophores de *Sepia* est diminuée. On le constate si on fait sortir le réservoir en coupant l'étui en un endroit quelconque : il n'est pas projeté au dehors et la tunique moyenne non gonflée ne remplit pas la cavité de l'étui. Elle est coagulée, granuleuse, opaque, et a perdu son élascitité. La pression qu'elle exerce normalement sur le boyau est supprimée, ce qui explique pourquoi ce dernier s'élargit, et pourquoi les éclatements n'ont pas lieu.

Octopodes. — Les spermatophores des trois espèces ont été traités par des solutions acides. Ceux d'*Octopus* éclatent ou se dévaginent à toutes les dilutions d'HCl. En général, la dévagination débute au bout de 15 à 60 secondes, surtout dans les solutions de l'acide concentré. Elle est suivie, en un temps variable, d'un éclatement antérieur ou postérieur au réservoir spermatique. Parfois cet éclatement ne se fait pas, la pression développée restant insuffisante. C'est le cas dans les solutions les plus fortes, acide normal ou à 10 ou 20 % d'acide concentré. Bien que l'effet inhibiteur produit par les ions H^+ sur les éclatements de ces appareils apparaisse moins nettement que chez *Sepia*, on peut cependant observer, chez quelques individus, un ralentissement croissant depuis les solutions faibles jusqu'aux plus concentrées. On peut même mettre en évidence que la vitesse des éclatements présente un maximum, peu important, il est vrai. Le tableau XX montre la valeur de ce retard dans les différentes solutions.

Chez *Eledone cirrhosa* les résultats ne sont guère différents : la vitesse des éclatements augmente à mesure que la concentration en ions H^+ décroît, de la solution normale à la dilution millinormale. Mais ceci ne vaut que pour les appareils proches

TABLEAU XIX.

Modifications des dimensions des spermatophores de Sepia officinalis *en fonction de la concentration de l'acide chlorhydrique.*

Concentration de l'acide	Diminution de la longueur totale par rapport à la longueur primitive	Allongement de l'appareil éjaculatoire	Elargissement du réservoir spermatique
50 % d'acide pur		22 à 26 %	23 à 60 %
10 %	6,6 à 10 %	6,6 ; 14,8 et 20 %	17 à 40 %
1 %	6,4 à 9, 5 %	14,8 et 26 %	
Solution N/10	8,7 %		
N/100	5 %	22 ; 30 et 33 %	
N/1000	0 à 1,2 %	30 %	

TABLEAU XX

*Vitesse des éclatements des spermatophores d'*O. vulgaris *dans ClH.*

Concentration de l'acide	Individu N° 1	Individu N° 5	Individu N° 15	Individu N° 16
Acide pur à 20 %			1/4 en 1 h.	3/8 en 1 h.
10 %			2 min.	1/4 en 1 h.
Acide normal		1/12 en 1 h.	8 min.	1/2 en 1 h.
N/2		3/4 en 1 h. et tout 10'	12'	3/4 en 1 h.
N/5		3'	45"	1' 30"
N/10	2'30"	2'	40"	1' 30"
N/100	2'	7'	1'30"	2, 45"
N/1000	4'30"		2'	12' 30"

de la sortie de la poche de NEEDHAM ; ceux du fond sont en général réfractaires, sauf dans la solution à N/1000, où ils s'ouvrent dans le même temps, à peu près, que dans l'eau distillée neutre.

Les spermatophores d'*E. moschata* éclatent dans la solution centinormale à une vitesse comparable à celle observée dans l'eau distillée.

L'acide carbonique de l'eau de Seltz provoque ou non des éclatements, selon les individus.

Action des ions OH^-.

Nous avons utilisé, comme alcalis, la soude, l'ammoniaque et l'eau de chaux concentrée sur les spermatophores de Céphalopodes.

Déhiscences. — Les éclatements sont constants dans les alcalis. La rupture de l'étui se fait, en général, vers la région postérieure de l'appareil éjaculateur. Les dévaginations sont très rares ; nous ne les avons observées que sur les spermatophores d'*E. moschata.*

La vitesse des éclatements varie un peu selon les individus, mais elle est toujours rapide : elle est pour toutes les espèces de l'ordre de 15 secondes à 3 minutes, exceptionnellement de 5 à 15 minutes. Les spermatophores du fond de la poche de NEEDHAM ont, à peu près toujours, un certain retard ; ils s'ouvrent en 2 minutes au lieu de 1 minute pour ceux placés près de l'orifice de cet organe. Il n'y a pas de différences nettes dans les vitesses d'éclatements dans les solutions de soude à N/100 et N/1000.

Dans la chaux, quelques appareils de *S. officinalis* peuvent ne pas éclater.

Gonflements. — Les substances du spermatophore se dilatent dans les solutions alcalines de façon telle que l'étui distendu ne résiste pas à l'accroissement de la pression interne et se rompt, en un point plus faible, qui n'est pas toujours le même. Cette enveloppe est cependant extensible dans certaines limites, car tout l'appareil subit dans NaOH à N/10, par exemple, un allongement qui atteint 15 % de la longueur du spermatophore dans l'eau de mer. Mais la pression développée par la dilatation des parties internes est plus forte. La substance interspermatique dans le réservoir se dilate et les spermies s'écartent les unes des autres. Le sac antérieur et la trompe s'allongent lorsqu'ils ne sont plus comprimés dans l'étui, jusqu'à s'accroître des deux tiers de leur longueur primitive à l'intérieur du système clos. L'eau de chaux produit une forte dilatation de la paroi de l'étui qui se déforme et se renfle, surtout en arrière.

Action consécutive des ions H^+ et OH^-.

Nous n'avons fait agir la soude après le passage des spermatophores dans une solution acide (HCl et SO^4H^2) que sur les productions de *S. officinalis* et de *L. vulgaris*, puisque, seules, elles n'éclatent pas en milieu acide.

Dans le cas de *Sepia* on obtient l'éclatement très retardé des spermatophores

après HCl, mais rien après l'action de SO^4H^2 : ceux de *Loligo*, passés seulement par HCl, résistent au delà d'une heure à la déhiscence.

Dans le passage dans la soude après l'acide, l'étui gonfle plus vite que le réservoir ; le sac s'allonge et se déforme. La pression intérieure, qui était réduite en milieu acide, est nettement augmentée : on s'en rend compte par l'expulsion complète du boyau spermatique lorsqu'on coupe l'étui.

La tunique moyenne devient hyaline et de nouveau dilatable.

Les éclatements sont, en général, trop rapides dans la soude pour que nous ayons pu essayer l'action inverse en traitant les spermatophores d'abord par l'alcali, puis par l'acide.

2. *Rôle de la tension osmotique des solutions.*

La tension osmotique à l'intérieur de la poche de NEEDHAM joue-t-elle un rôle pour empêcher les spermatophores de s'ouvrir ? Nous avons tenté de le déterminer par expérience.

Comportement des spermatophores soumis à une pression osmotique égale à celle de l'eau de mer.

L'action de l'eau de mer normale, comparée à celle d'une solution de glucose isotonique avec elle, montre que l'effet d'une tension osmotique élevée (28 atm.) est pratiquement nul sur les spermatophores de Céphalopodes.

Dans l'eau de mer, seuls les spermatophores de *Sepia* résistent tous. Ceux de *Loligo* n'éclatent qu'exceptionnellement.

Chez *Sepiola* nos observations confirment celles de WEILL, qui a montré comment ces appareils se dévaginaient invariablement dans l'eau de mer. Ceux de *Rossia* ne s'ouvrent qu'après un long séjour, 6 à 24 heures, par dévagination.

Les spermatophores d'*Octopus* se dévaginent en 2 à 10 minutes et éclatent ensuite. Chez certains individus ils peuvent être réfractaires, cependant.

Chez *E. moschata* les phénomènes sont les mêmes.

Chez *E. cirrhosa* les spermatophores du fond de la poche de NEEDHAM n'éclatent pas chez 50 % des exemplaires ; ceux qui s'ouvrent peuvent résister pendant 45 minutes, mais le plus souvent les ouvertures se font en 3 à 8 minutes.

Dans la solution isotonique de glucose les éclatements se font en très peu de temps même chez *Sepia* où ils s'ouvrent en 30 secondes à 5 minutes, que le pH soit 6,6 ou 8.

Le blocage des déhiscences, quand il se produit dans l'eau de mer, n'est donc pas dû à la tension élevée de celle-ci, mais à la présence des sels qu'elle contient, comme nous le verrons plus loin.

Comportement des spermatophores dans l'eau distillée.

Ainsi qu'on pouvait le prévoir, en l'absence de pression osmotique élevée et de

sels, les spermatophores de toutes les espèces s'ouvrent très rapidement dans l'eau distillée. Les éclatements durent 15 secondes à 5 minutes, parfois plus ; les appareils moins mûrs du fond, résistent 2 ou 3 minutes de plus.

L'eau distillée, quoique neutre, agit aussi par ses ions OH^- sur les substances acides des spermatophores.

On observe un allongement des appareils ; chez *Sepia* il est de 2 à 5 % de la longueur mesurée dans l'eau de mer.

3. *Rôle de la viscosité des solutions.*

On pouvait aussi penser que le mucus visqueux de la poche de NEEDHAM soit en partie responsable de l'inertie des spermatophores dans cet organe. Afin de le vérifier, nous avons fait intervenir d'autres milieux visqueux : solutions de gélatine à 1 et à 3 % dans l'eau distillée, à pH 6,6 et 7 environ ; l'albumine du blanc d'œuf (pH 8 environ). Les appareils éclatent tous, sauf quelques uns de *S. officinalis*, qui résistent dans l'albumine. Les temps d'ouverture sont courts : 3 à 9 minutes, en moyenne.

Ces éclatementss montrent que la viscosité seule n'a pas d'action sur le blocage des spermatophores dans l'organe où ils sont mis en réserve.

4. *Rôle des cations dans les solutions.*

Si dans l'eau de mer la tension osmotique n'empêche pas les éclatements, par contre, les sels dissous agissent nettement sur les spermatophores de certaines espèces telles que *S. officinalis* et *S. elegans*, *Loligo vulgaris* et *E. cirrhosa*.

Nous avons recherché le rôle des principaux cations alcalins et alcalino-terreux contenus dans l'eau de mer, par l'emploi de solutions isotoniques des 4 chlorures utilisés séparément, d'une part, ou par leurs mélanges deux à deux de l'autre. Les données obtenues ont été remplacées par l'usage de solutions salines diluées sur les spermatophores de *Sepia*, et de l'action consécutive ou simultanée de la soude. Nous avons aussi essayé de modifier l'action des ions H^+ en les employant en milieu salin, sur les spermatophores qui éclatent dans l'eau de mer.

Action des chlorures alcalins et alcalino-terreux en solutions isotoniques avec l'eau de mer.

Les résultats obtenus diffèrent quelque peu selon les espèces.

OCTOPODES. — Les spermatophores d'*Octopus* se dévaginent ou éclatent dans les solutions simples ou mélangées en un temps qui varie entre 45 secondes et 3 minutes. Il y a de rares appareils réfractaires dans les solutions de $MgCl^2$ et de $CaCl^2$, et chez certains individus, dans le chlorure de sodium.

Chez *E. moschata* dans chaque chlorure employé seul, il y a une partie des spermatophores qui éclate et une autre qui résiste plus d'une heure.

Les appareils d'*E. cirrhosa* se comportent différemment, comme toujours, selon leur provenance dans la poche de NEEDHAM. Ceux de la région proximale s'ouvrent tous en quelques minutes, sauf dans le mélange $CaCl^2$-$MgCl^2$ où une partie reste fermée. Ceux du fond n'éclatent pas, ou pas tous, dans les chlorures de Ca et de Mg, ni dans les mélanges suivants : NaCl-$CaCl^2$, KCl-$MgCl^2$, $CaCl^2$-$MgCl^2$. Dans d'autres mélanges, KCl-NaCl, et KCl-$CaCl^2$, ils sont seulement retardés longtemps (45 à 55 minutes).

DÉCAPODES. — Les spermatophores de *Sepia* n'éclatent dans aucune solution isotonique avec l'eau de mer. Ceux de *Rossia* non plus (dans le délai d'une heure), à part quelques exceptions dans NaCl.

Action de l'eau de mer et des chlorures isotoniques dilués.

On peut diminuer l'action inhibitrice des sels sur les appareils réfractaires en diminuant leur teneur dans les solutions. C'est ainsi que l'eau de mer diluée de 50 % produit une accélération des éclatements des spermatophores d'*E. cirrhosa*, vitesse qui croît légèrement à des dilutions plus fortes de l'eau marine.

En ce qui concerne les spermatophores de *Sepia*, il faut arriver à une dilution de 90 % pour provoquer des déhiscences. Avec une eau contenant seulement 5 % d'eau de mer on n'obtient encore que 90 % d'éclatements. Ce n'est qu'à une teneur de 1 % d'eau marine que tout s'ouvre en 15 minutes.

Dans les chlorures de sodium et de potassium, ce n'est qu'à partir de la dilution à 20 % de leur solution isotonique avec l'eau de mer que l'on obtient parfois l'éclatement de tous les appareils en 1 heure. Aux dilutions de 10, 5, et 2 % du chlorure isotonique les éclatements ne sont pas en nombre inférieur à 33 % et peuvent atteindre tous les spermatophores en 15 minutes. Les solutions de $MgCl^2$ et de $CaCl^2$ ne parviennent pas à faire s'ouvrir tous les appareils, et souvent aucun n'éclate.

Dans les mélanges de chlorures dilués qui contiennent $CaCl^2$ ou $MgCl^2$ les éclatements n'ont lieu, quand il s'en produit, qu'à partir de 10 % de solution isotonique. Ils atteignent alors 33 % des spermatophores. Dans la dilution à 5 %, ils s'échelonnent entre 0 et 95 % en 1 heure ; avec 2 % de solution isotonique 25 à 100 % des appareils s'ouvrent. Le mélange de sels KCl-NaCl est moins inhibiteur et pour une teneur de 20 % de solution isotonique il peut déjà y avoir ouverture de tous les spermatophores.

Chez *S. elegans*, il n'y a pas d'éclatement dans les solutions diluées de NaCl, $MgCl^2$ et $CaCl^2$; ce n'est que dans les solutions de KCl qu'il peut s'en produire, selon les exemplaires. L'action des sels mélangés dilués n'a pas été recherchée sur les productions de cette espèce.

Effet des cations sur les déhiscences produites par la soude.

On peut faire intervenir les ions OH^- sur les spermatophores qui ont subi sans s'ouvrir l'action des milieux salins, et voir les modifications que ces derniers apportent au comportement des spermatophores dans les alcalis. Ces expériences peuvent mettre en évidence l'influence spécifique des cations comme nous l'avons fait sur les appareils des Pagurides. Nous avons utilisé seulement la soude comme alcali, soit dans la solution saline, soit seule, après l'intervention du milieu salé.

Alcalinisation de la solution saline. — Dans l'eau de mer alcalinisée par la soude jusqu'à pH 9, il n'y a pas d'éclatement des spermatophores de *Sepia*. Une partie de ceux d'*Eledone cirrhosa* éclatent un peu plus rapidement que les témoins dans l'eau de mer normale. Les autres restent réfractaires. Ceux d'*Octopus* et d'*E. moschata* s'ouvrent par dévagination et éclatement.

En alcalinisant les solutions de chlorures isotoniques par addition de 10 % de NaOH à N/10, on détermine chez *Sepia* des éclatements rapides dans KCl ; dans NaCl, il résiste parfois quelques appareils ; dans $MgCl^2$ et $CaCl^2$, par contre, rien ne s'ouvre. On obtient quelques éclatements des spermatophores de *Rossia* dans NaCl alcalinisé, mais ils restent tous intacts dans les mélanges de chlorures additionnés de NaOH. Les productions de *S. elegans* s'ouvrent en nombre variable dans la solution isotonique de NaCl sodée ; il faut ajouter 50 % de soude décinormale pour que tout éclate.

Action de la soude après le passage dans la solution saline. — L'action de NaOH consécutive au séjour des spermatophores dans un milieu salin n'a été appliquée que sur les appareils de *S. officinalis*. Après le passage par l'eau de mer, NaOH à N/100 provoque des éclatements rapidements terminés (1'5''). La soude à N/1000 produit, après KCl et NaCl en solutions isotoniques aussi de rapides ouvertures (10 à 45 secondes) ; mais après $CaCl^2$ et $MgCl^2$ rien ne bouge ; il en va de même si on emploie une solution à N/100 de soude.

Après les mélanges de chlorures, on n'obtient d'éclatements qu'avec NaCl-KCl. en deux minutes. Après les cinq autres mélanges, il n'y a rien.

Ces résultats montrent tous que les cations alcalino-terreux exercent une forte action inhibitrice sur les ions OH^-, tandis que les ions alcalins, employés seuls ou ensemble, n'empêchent ni ne retardent les éclatements sous l'effet de la soude.

Action de l'eau de mer sans calcium.

Si on essaie de déterminer le rôle du calcium de l'eau de mer dans l'action que celle-ci exerce sur les spermatophores de Céphalopodes, on ne constate rien de net. Nous avons procédé comme plus haut (p. 44), en précipitant les sels de Ca de l'eau de mer ; les éclatements se sont produits ou non, comme si l'eau n'avait pas été modifiée. La soude appliquée ensuite, dans le cas des spermatophores réfractaires de

S. officinalis, ne provoque pas d'éclatements plus rapides que si elle succède au milieu marin normal.

Action de l'eau de mer acide.

L'action de l'eau de mer sur les spermatophores d'*E. cirrhosa* et d'*O. vulgaris* n'est pas modifiée nettement par l'addition d'acide chlorhydrique normal dans les proportions de 0,1, 1 et 10 %. Le nombre et la vitesse des ouvertures reste à peu près les mêmes que dans l'eau d'alcalinité normale.

5. *Action des solutions oxydantes.*

L'action des substances oxydantes sur les spermatophores est variable selon les espèces et selon l'agent utilisé. Les appareils de *S. officinalis* s'ouvrent dans le permanganate de potasse à 1/10.000, soit dans l'eau pure, soit dans l'eau marine. Dans l'hypochlorite de soude en présence d'eau de mer, ils restent intacts. Dans l'eau oxygénée aussi. Le bichromate de potassium à 2,5 ou 5 % dans l'eau distillée produit quelques éclatements (1/3 des spermatophores environ).

Les appareils d'*E. cirrhosa* éclatent dans la solution salée de MnO^4K plus lentement que dans celle de l'eau pure. Ils sont en majorité réfractaires dans l'hypochlorite en solution dans l'eau de mer.

Les productions d'*E. moschata* s'ouvrent dans l'hypochlorite ajouté à l'eau de mer, mais moins vite que les témoins dans le milieu marin seul. Elles restent closes dans la solution de permanganate.

De ces données opposées, il semble résulter que les agents d'oxydation ont des rôles très différents suivant leur nature : l'eau oxygénée et le bichromate de potassium empêchent ou retardent les déhiscences ; ClONa renforce l'action inhibitrice des sels de l'eau de mer ; MnO^4K, par contre, diminue leur influence sur les spermatophores de *Sepia* et de *E. cirrhosa*. Il est possible que des actions antagonistes des cations interviennent en même temps pour venir modifier les résultats.

6. *Rôle des substances réductrices.*

Aaction du sulfhydrate d'ammonium en solution.

Nous n'avons fait agir $(NH^4)\ ^2S$ en solution, à raison de 1 goutte dans 10 cc. d'eau distillée ou marine, que sur les spermatophores d'*E. cirrhosa* et de *S. officinalis*.

Déhiscences. — Tous les appareils éclatent dans la solution dans l'eau douce en 1 à 10 minutes environ.

Les sels de l'eau de mer retardent les éclatements chez les deux espèces et les inhibent complètement lorsqu'il s'agit d'appareils du fond de la poche de Needham d'*E. cirrhosa*.

Gonflements. — L'éclatement est attribuable, ici comme sous l'influence des au-

tres facteurs, au gonflement des substances à l'intérieur de l'étui. Il se produit simultanément une forte distension de l'enveloppe qui s'allonge considérablement et est déformée par des renflements, surtout dans la région médiane souvent gonflée en ampoule. Ces déformations de l'étui s'accompagnent d'une perte de rigidité de la paroi externe qui devient molle. Les spermatophores qui n'éclatent pas présentent des modifications qui n'ont pas abouti, pour eux, à la rupture de l'étui.

Actions du gaz sulfhydrique et des vapeurs de sulfure d'ammonium.

En faisant agir les vapeurs du sulfhydrate d'ammonium sur des spermatophores d'*E. moschata* placés dans l'eau de mer ou les solutions de chlorures isotoniques ils éclatent. Chez *S. officinalis* il en est de même en 6 à 17 minutes. Parfois des appareils résistent, surtout ceux qui proviennent du fond de la poche de NEEDHAM.

Si les spermatophores sont placés à sec, une partie d'entre eux s'ouvre chez *S. officinalis* en 30 secondes, mais ceux d'*E. cirrhosa* n'éclatent pas. Tous ceux qui résistent, provenant d'une espèce ou l'autre, subissent l'allongement et le ramollissement décrits ci-dessus, qui fait qu'ils ne pourront plus éclater.

L'hydrogène sulfuré agissant seul sur les productions spermatiques de *Sepia* placées dans l'eau de mer ne produit pas d'éclatement. Si on le fait suivre par l'action du gaz ammoniac il n'y a rien non plus. En appliquant, dans l'ordre inverse, le gaz sulfhydrique après l'ammoniac, le résultat reste identique.

Les actions de $(NH^4)\ ^2S$ et d'H^2S sont comparables à celles que l'on observe sur les spermatophores de Pagurides. Elles s'exercent principalement sur les substances de l'étui qui se dilatent fortement en se ramollissant. L'hydrogène sulfuré n'agit pas assez vite pour que les substances intérieures de l'appareil gonflent plus rapidement que l'étui et en provoquent la rupture sous leur pression ; par contre, l'ammoniac qui se dégage lorsqu'on emploie le sulfure d'ammonium accroît cette vitesse et entraîne la déchirure de l'enveloppe avant qu'elle ne soit trop distendue. La dilatation constatée peut s'expliquer aussi par une fixation de groupements SH et par la transformation des formes oxydées du soufre qui sont présentes, en formes réduites.

7. *Action des ferments digestifs.*

L'effet des agents protéolytiques sur les spermatophores de Céphalopodes est difficile à mettre en évidence du fait que la plupart d'entre eux s'ouvrent dans l'eau de mer ; les différences dans les vitesses d'éclatements que l'on peut noter sont trop faibles et trop peu constantes pour fournir des données sûres.

Il n'y a que chez *Sepia* et *Loligo* où l'on puisse les faire intervenir avec la certitude qu'ils sont responsables des éclatements qui se produisent.

Diastases d'Invertébrés.

Dans chaque cas, ce sont surtout les ferments provenant de l'espèce qui ont été

utilisés : solutions digestives faites de la macération de l'estomac et du cœcum spiral, de l'hépatopancréas ainsi que des glandes salivaires.

Les spermatophores d'*E. cirrhosa*, *E. moschata* et ceux d'*Octopus* éclatent d'une manière accélérée dans les deux premiers extraits de macération dans l'eau de mer, à des pH compris entre 6,5 et 8. Les appareils de certains *Octopus*, par contre, résistent à la fois dans les liquides de macération et dans l'eau de mer.

L'extrait des glandes salivaires macérées est parfois actif sur les appareils d'*Octopus*, ils s'ouvrent en 2 à 5 minutes ; chez d'autres individus, ce milieu digestif n'agit pas davantage que l'eau de mer.

L'action des ferments protéolytiques est bien plus nette sur les appareils de *S. officinalis* qui ne réagissent pas, normalement, dans l'eau de mer.

Diastases de l'estomac et du cœcum spiral. — Les diastases de l'espèce provoquent des éclatements à pH 6,2, 6,7 et 8, en un temps moyen de 45 minutes.

En additionnant d'HCl le liquide, on ralentit la vitesse des ouvertures ; par l'alcalinisation, on l'accélère légèrement.

Diastase hépatopancréatique. — Employée à pH 5,9 et 6,4 la macération de l'hépatopancréas de l'espèce provoque l'éclatement des spermatophores en 15 à 40 minutes. Après l'ébullition de la macération, le ferment est détruit et rien n'éclate.

Diastase des glandes salivaires. — La macération des glandes salivaires dans l'eau de mer, à pH 6,7 et 6,9, fait éclater tous les appareils à des vitesses variables selon l'individu : 1 à 4 minutes ou une demi-heure. Après l'ébullition du liquide, les éclatements sont ralentis et se font en 7 minutes au lieu de 3 minutes 1/2 pour les spermatophores témoins.

Si on fait agir sur les appareils de *Sepia* les liquides obtenus avec les organes d'*Eledone* (dans lesquels les productions de cette espèce s'ouvrent) on n'obtient des éclatements, d'une partie seulement des spermatophores, qu'avec la diastase des glandes salivaires.

Diastases de Vertébrés.

Les solutions contenant environ 0 gr. 5 de poudre de ferments digestifs du commerce (pepsine, trypsine, peptone pepsique) pour 100 cc. d'eau distillée, à des pH voisins de 5, et de 6.5, provoquent des éclatements rapides chez toutes les espèces. Les vitesses ne diffèrent guère de celles que l'on observe dans l'eau distillée employée seule. On ne peut, par suite, tirer de conclusion quant à l'action diastasique proprement dite, de ces expériences.

L'emploi des milieux digestifs établis selon DE WAELE (p. 10) nous a fourni des renseignements plus précis, par suite de la présence des sels de la solution physiologique, sur des spermatophores de *S. officinalis* et d'*Illex coindetii* : ceux-ci restent, en effet, réfractaires dans la solution gastrique, à pH 2 (pH voisin de l'optimum qui est, pour la pepsine, de 1,4 à 1,8. (THOMAS, Biochimie, p. 723) ; tandis que dans le mélange

pancréatique à pH 8, les spermatophores éclatent à 1 à 3 minutes (15 au maximum). Il en est de même dans le mélange trypsine-bile à pH 7,5 dans lequel les appareils d'*Illex* ne résistent pas plus de 4 minutes et ceux de *Sepia* 10 minutes, avant d'éclater.

Les solutions de ferments protéolytiques dans l'eau de mer peuvent aussi fournir des données utiles, en ce qui concerne les spermatophores de *Sepia*, car nous ne les avons pas employées chez d'autres Décapodes. Les appareils des deux *Eledone* se comportent comme dans l'eau de mer sans diastase : ils éclatent aussi vite, et présentent un certain retard quand il s'agit des appareils du fond de la poche, dont un bon nombre résiste entièrement.

On peut établir des différences dans l'action des divers ferments digestifs en solution dans l'eau marine, sur les productions de *Sepia*. La pepsine reste sans influence sur les appareils, que ce soit à pH 1 ou à des pH voisins de 5 et de 5,6. Il en est de même avec la peptone pepsique, à pH 5,6 et 7,1. La trypsine, par contre est active à pH 8 et provoque des ouvertures en 13 minutes pour les spermatophores de la partie proximale du réservoir de NEEDHAM et en 34 minutes pour ceux du fond. On vérifie que c'est une action de ferment, car dans la solution bouillie les éclatements ne se produisent que dans un délai supérieur à une heure, dans certains cas.

A cause de la présence de sels marins à une teneur qui inhibe tout éclatement chez *Sepia*, les solutions d'enzymes dans l'eau de mer permettent de voir quels sont les ferments actifs sur les substances qui constituent les spermatophores. Les autres sont sans effet, ainsi que l'on peut s'en rendre compte en prolongeant la digestion pepsique, par exemple, pendant plusieurs jours sans obtenir de résultat (voir p. 134).

8. *Action des macérations d'organes génitaux.*

Nous avons cherché, d'une part, à provoquer l'éclatement des spermatophores en les soumettant à l'influence des macérations d'organes génitaux femelles, et, d'autre part, à déterminer si les extraits de certaines parties du tractus mâle produisaient un retard dans les ouvertures.

Ni les macérations d'ovaires dans l'eau de mer, ni celles d'oviductes n'ont d'effet net sur les spermatophores d'*E. cirrhosa*, d'*Octopus* et de *Sepia*.

Parmi les organes mâles nous avons fait des macérations dans l'eau de mer de la poche de NEEDHAM, puisque c'est là que se trouvent mis en réserve les spermatophores définitivement constitués et inertes. Chez *Sepia*, le liquide à pH 7,4 ne produit aucun éclatement. Chez *E. cirrhosa*, à pH 6,4, les résultats sont les mêmes que dans l'eau de mer seule. Cependant, la macération d'organe de NEEDHAM dans l'eau pure produit un retard chez *E. cirrhosa* dont les appareils s'ouvrent en un temps double de celui pris par les témoins dans l'eau distillée. Les spermatophores de *Sepia* sont presque tous bloqués dans cette liqueur, à pH 6,8, mais gonflent et s'allongent, toutefois.

Le liquide à l'intérieur de l'étui est susceptible d'empêcher le gonflement du réservoir spermatique qu'il baigne et ainsi de retarder les éclatements des spermato-

phores. La dilation du boyau est, comme nous l'avons vu, un des facteurs de l'ouverture des appareils dans les solutions expérimentales ; ce n'est peut-être pas le seul organe, du reste, qui puisse être modifié par le liquide intérieur. Pour étudier l'action possible de ce dernier, nous avons fait éclater de nombreux spermatophores dans l'eau distillée, après un lavage pour enlever le mucus externe. Au fur et à mesure de leur éclatement ils ont été enlevés du liquide afin que les spermatozoïdes ne sortent pas des boyaux avec le mucus qui les baigne. Ensuite un lot d'appareils frais a été mis en expérience. Ceux-ci ont éclaté presque tous en 1 heure de temps, alors que les témoins s'ouvraient en 6 à 8 minutes dans l'eau distillée. Les réservoirs spermatiques expulsés étaient nettement moins gonflés que dans l'eau distillée.

Chez *E. cirrhosa* le résultat est moins net, comme toujours, surtout que nous n'avons pu faire éclater qu'une vingtaine de spermatophores pour préparer la solution ; des appareils frais placés dans le liquide obtenu, à pH 6,8, ont éclaté en 6 minutes et demie de moyenne, tandis que les témoins s'ouvraient dans l'eau distillée dans un temps moyen de 3 minutes.

Ces faits démontrent donc que le liquide intérieur de l'étui ralentit les éclatements des spermatophores que l'on plonge dans ses solutions.

RÉSUMÉ DE LA DEUXIÈME PARTIE

Le spermatophore des Céphalopodes est constitué fondamentalement par un réservoir à spermatozoïdes rattaché à un appareil de déhiscence, tous deux entourés par un étui en forme de sac, fermé à l'extrémité antérieure par une ligature.

Ce sont des organes volumineux, pouvant atteindre 70 mm. de longueur chez E. *cirrhosa*. Ils possèdent une pression intérieure assez forte, exercée surtout par la tunique moyenne de l'étui, ou, si elle manque, par le fluide interne et par l'appareil éjaculateur.

Les substances anhistes qui constituent le spermatophore ont un pH acide, compris entre les valeurs 5,8 et 7,0. De même, la réaction intérieure du conduit sexuel est acide et varie entre pH 5,8 et 6,4

L'étude chimique des appareils entiers ou hydrolysés montre qu'ils sont formés de glucoprotéides. Ceux-ci présentent, dans leur groupement protéidique, les acides αaminés suivants : tyrosine, phénylalanine, tryptophane, arginine et les acides thioaminés, cystine et cystéine. Ils contiennent, de plus, du glutathion sous sa forme oxydée. Une analyse quantitative précise de ces aminoacides n'a pu être effectuée sur ce matériel trop peu abondant ; cependant, les différentes intensités des colorations obtenues lors des réactions témoignent que leurs quantités respectives varient suivant les régions du spermatophore. Le groupement prosthétique est formé d'esters sulfuriques de polyosides que nous n'avons pu identifier à l'acide mucoïtine-sulfurique. Ils donnent les colorations métachromatiques caractérisant ces corps. Seuls ne les donnent pas, le mucus interspermatique, la paroi du boyau et l'intérieur du sac éjaculateur ; ces derniers renferment, toutefois, un groupement glucidique, mais que nous n'avons pu déterminer. Les protéines des spermatophores de Céphalopodes s'apparentent donc de près aux mucus et aux chondroïdes dont elles ont quelques unes des propriétés physiques.

L'ouverture de ces appareils peut se faire de deux façons différentes :

1° par la dévagination du système éjaculatoire, entraînant le réservoir et aboutissant à la formation d'un spermatophore secondaire, ou spermatange, placé sur la femelle, et dont les spermies s'échappent facilement. Suivant les espèces, cette dévagination est déclenchée par l'imbibition de l'eau de mer ou par une traction mécanique sur la ligature ; cette traction est toujours inopérante chez *Sepiola* et très souvent chez *Octopus* :

2° par rupture de l'étui, en un point quelconque, aboutissant à la projection à l'extérieur du boyau spermatique. Dans ce cas, la ligature est plus résistante que la paroi de l'étui. On observe ce deuxième mode, dans les conditions naturelles, seulement chez certains Octopodes, mais c'est la façon la plus générale de s'ouvrir pour les appareils placés dans les milieux expérimentaux, en particulier pour ceux des Décapodes.

Pour préciser quels sont les facteurs produisant ou empêchant l'éclatement des spermatophores, nous les avons soumis aux mêmes solutions expérimentales que les productions des Pagures.

Les variations du pH du milieu agissent différemment sur les spermatophores des Décapodes et des Octopodes. Les premiers n'éclatent pas aux pH acides, par suite de la coagulation de la tunique moyenne de l'étui. Ceux des Octopodes s'ouvrent à des vitesses croissant inversement avec la concentration en ions H^+. Mais tous éclatent rapidement aux pH alcalins. Cet effet peut être ralenti par l'intervention préalable d'un milieu acide.

Le rôle de la tension osmotique extérieure est négligeable sur les spermatophores de même que la viscosité du mucus de la poche de NEEDHAM.

En revanche, les cations, soit dans l'eau de mer, soit seuls ou mélangés deux à deux, empêchent toute déhiscence chez *Sepia* et *Loligo*, en permettent quelques unes chez *Eledone* et toutes chez *Octopus*. La dilution ou l'alcalinisation des solutions permet d'avoir des éclatements des appareils réfractaires, à des teneurs variables, suivant le cation, ce qui révèle le rôle spécifique de chacun d'eux.

Les solutions oxydantes agissent diversement : celles de permanganate de potassium font ouvrir les appareils de *Sepia*, insensibles, par ailleurs, à l'action de l'hypochlorite de soude, l'eau oxygénée, le bichromate de potasse.

L'action réductrice du sulfure d'ammonium, agissant en solution ou par ses vapeurs, provoque des éclatements qui sont ralentis ou inhibés par l'eau de mer. La forte distension de la coque devenue molle peut être telle que les spermatophores ne peuvent plus éclater. Cette élongation, accompagnée de ramollissement de l'étui est à rapprocher du même effet produit par les sulfures alcalins sur les kératines.

Le rôle des ferments digestifs n'est évident que sur les productions des Décapodes, qui restent intactes dans l'eau de mer. On voit alors les diastases stomacale, hépatopancréatique et salivaire de l'espèce, provoquer des éclatements. Les ferments de Vertébrés ne donnent de résultats concluants que s'ils sont employés en solutions physiologiques ou dans l'eau de mer. Dans ces conditions, les spermatophores sont réfractaires dans le mélange pepsique, mais s'ouvrent en milieu tryptique.

Les macérations d'organes génitaux femelles n'ont aucune action sur l'ouverture des appareils mâles. Par contre, celles de la poche de NEEDHAM retardent ou arrêtent les déhiscences, ce qui explique la conservation des spermatophores par le mucus de cet organe. Le liquide intérieur de l'étui agit dans le même sens, mais à un moindre degré.

TROISIÈME PARTIE

Considérations générales sur les Spermatophores

Chapitre I

Comparaison générale des spermatophores dans les deux groupes étudiés.

a) *Comparaison morphologique.*

Partout les spermatophores sont des sacs à sperme, entourés d'enveloppes protectrices plus ou moins compliquées. Souvent (Pagurides, Céphalopodes et Décapodes) il s'y ajoute un dispositif adhésif permettant la fixation des réservoirs spermatiques sur le corps de la femelle, ou, à défaut, sur un support quelconque.

Chez les Pagures, la structure du spermatophore est simple. C'est fondamentalement une coque bivalve, dont les deux moitiés sont collées l'une à l'autre par un ciment sutural.

Chez les Céphalopodes, le réservoir spermatique est tubulaire, et il est toujours entouré de tuniques plus ou moins nombreuses, de consistance variable, mais dont l'externe (étui) est toujours plus épaisse et durcie. Cette complexité plus grande du spermatophore semble la conséquence de la différenciation plus poussée de l'appareil génital mâle. En effet, chez les Pagurides cet appareil est un simple tube ; chez les Céphalopodes, il présente des organes annexes plus ou moins nombreux et plus ou moins compliqués.

La structure anatomique de l'appareil mâle conditionne pour une partie celle du spermatophore ; elle retentit également sur la localisation du système adhésif. Chez les Pagurides, il est toujours externe au spermatophore (embase). Chez les Cé-

phalopodes, toujours interne, annexé à l'appareil éjaculatoire, qui complique l'appareil spermatique, et provoque son ouverture. Celle-ci, chez les Pagurides, se fait par dissolution de la suture, les valves s'écartent en libérant les spermatozoïdes.

En comparant les dimensions relatives des productions spermatiques dans les deux groupes, on observe que, chez les Pagurides il y a proportionnalité entre la taille du spermatophore et celle du Pagure qui l'a produit, tant d'une espèce à l'autre que dans la même espèce. Tandis que chez les Céphalopodes, la longueur des appareils est bien fonction de la taille du mâle qui les a élaborés dans une espèce donnée ; mais entre genres voisins des deux sous-ordres, les dimensions ne sont pas proportionnelles à la taille des individus (comparer les longueurs des spermatophores de *Sepia* et d'*Eledone*, dont les corps ont sensiblement la même taille ; les longueurs respectives du corps et des spermatophores de *Sepiola* (40 mm et 8 mm) et celles de *Sepia elégans* (100 mm et 8 mm).

Nous voyons que les spermatophores de ces derniers sont des productions énormes par rapport aux dimensions de l'individu qui les fournit. Ceux des Pagures sont relativement petits (un *Eupagurus* de 3 cm a des appareils environ 20 fois plus petits (380 μ) que ceux d'une Sépiole de même longueur). Ces inégalités de proportions entre les tailles relatives des individus et de leurs productions spermatiques se retrouvent dans divers groupes possédant des spermatophores : chez les Copépodes, ce sont de volumineux organes, dont la longueur atteint le cinquième de celle du corps ; chez les Gastéropodes Pulmonés également (1/8e environ) ; chez le Grillon, le vingtième à peu près. Ces variations de taille que l'on observe entre les différentes espèces des divers groupes sont comparables à celles qui existent entre les gamètes, tant mâles que femelles, dans la série zoologique.

On peut également comparer l'activité des conduits génitaux dans les deux groupes et constater que le nombre d'appareils produits est variable selon l'espèce. Certaines en élaborent peu, chez les Pagures (*Clibanarius*, *Calcinus*) ; d'autres beaucoup (*Eupagurus*) et de même, chez les Céphalopodes, *Octopus*, *Eledone* et *Sepiola* en ont un petit nombre ; *Sépia Loligo* une quantité plus grande. Dans ce dernier groupe, le nombre des productions est, en gros, inversement proportionnel aux dimensions relatives des appareils.

L'aspect des substances constituant les spermatophores dans les deux groupes est le même : les unes sont opaques et blanches, les autres transparentes et incolores, d'autres semi-hyalines, un peu jaunâtres. La lumière de Wood montre une fluorescence primaire sur certaines parties des appareils de Céphalopodes (réservoir et appareil de déhiscence) et une fluorescence secondaire seulement (après le formol) sur les ampoules des Pagurides. Ceci indique une différence dans la nature des substances en cause.

Les propriétés physiques des constituants des spermatophores sont du même ordre dans les deux groupes : ce sont des gels colloïdaux plus ou moins fluides, d'élasticité variable, susceptibles de s'imbiber d'eau en sortant du milieu visqueux et acide où ils sont conservés dans le conduit déférent.

Dans le système formé par chaque spermatophore, qu'il appartienne aux Céphalopodes ou aux Pagurides, il existe une certaine pression qui est utilisée dans le déclenchement de l'ouverture dans l'un et l'autre groupe. Le spermatophore de Copépode est en cela analogue aux précédents (Ray Lankester, A Treatise on Zoology, 1909).

b) *Comparaison chimique.*

Les spermatophores sont, nous l'avons vu, constitués par des substances acides (atteignant tout au plus la neutralité), élaborées dans des voies génitales à milieu intérieur acide, mis en réserve dans une portion du conduit dont le mucus est aussi acide, tant chez les Pagurides, que chez les Céphalopodes.

La composition chimique des spermatophores est, en gros, très analogue dans les deux groupes. Cette ressemblance pourrait s'expliquer par le fait que, parmi les Mollusques, les Céphalopodes secrètent de la chitine comme substance de soutien, semblables en cela aux Crustacés dont c'est une propriété caractéristique. La chitine n'est cependant pas la seule scléroprotéine élaborée par les Céphalopodes ; en effet, les anneaux transparents et rigides secrétés par les ventouses des bras d'*Illex coindeti* sont formés d'une substance différant à la fois de la chitine et des constituants des spermatophores.

Les substances chimiques qui constituent l'appareil spermatique sont des glucoprotides de nature variable suivant les régions considérées. Elles donnent, en effet, toutes les réactions générales des protides et des glucides.

L'analyse du groupement protidique conduit à la détermination de quelques aminoacides présents dans les deux séries d'appareils. Ce sont les mêmes, à l'exception de la phénylalanine que nous trouvons uniquement dans le spermatophore de Céphalopode. Des différences dans l'intensité des réactions colorées décèlent des proportions variables d'acides αaminés, suivant les parties considérées de l'appareil des Pagures comme de celui des Céphalopodes.

L'identification du groupement prosthétique donne des résultats certains pour quelques constituants, mais non pour tous. Il s'agit de corps très voisins des mucoprotides pour les enveloppes et la plupart des fluides dans les deux groupes. Ceci est mis en évidence par la chromothropie de ces corps. Les seules parties qui ne la présentent pas chez les Pagures sont l'embase et les pédicules (mis à part les spermatozoïdes). Chez les Céphalopodes, ce sont le mucus interspermatique, la membrane du boyau et le contenu visqueux du sac antérieur. Il est à remarquer que dans les deux cas, c'est la substance glutineuse servant à la fixation de l'appareil sur un support, qui diffère dans son groupement prosthétique. Les protéines conjuguées qui entrent dans la composition de ces matières visqueuses et élastiques donnent toutes les réactions protidiques plus intensément que les autres, ce qui fait penser que le groupement protidique y est plus important que la partie glucidique. Dans le spermatophore, quel qu'il soit, on a nettement deux catégories de substances en présence :

1° celles dont le groupement prosthétique est un ester sulfurique de polysaccharide, dominant, semble-t-il, par rapport au protide lié à lui ;

2° celles à groupements glucidique indéterminé et dont la partie protidique prédomine ; elles forment l'embase des Pagures et le contenu du sac des Céphalopodes.

L'hydrolyse enzymatique en milieu tryptique montre aussi que l'embase et le sac, beaucoup plus longs à digérer, diffèrent de toutes les autres parties des spermatophores.

On peut rapprocher les constituants des deux séries d'appareils de diverses autres scléroprotéines connues. Ils s'apparentent à la séricine de la soie, qui est une protéine d'Arthropode, comme les substances des spermatophores de Pagures. Ils ressemblent aux kératines par les groupements soufrés qu'ils possèdent. Ce sont, en outre, des matières très voisines des mucoprotides présents chez les Invertébrés comme chez les Vertébrés et des chondroprotides connus chez ces derniers seuls.

En définitive les composants des appareils spermatiques, dans les deux groupes où nous les avons étudiés, sont très voisins les uns des autres. Ils paraissent originaux, mais sont cependant apparentés par certains de leurs éléments à d'autres scléroprotéines.

c) *Comparaison physiologique.*

Les similitudes dans la composition des spermatophores de Pagurides et de Céphalopodes font prévoir que le comportement des appareils, dans des conditions expérimentales semblables, sera presqu'identique.

Dans les deux cas, l'ouverture se produit à la suite des phénomènes d'imbibition et de dissolution des substances anhistes. Le résultat atteint est la libération des spermies dans le milieu extérieur. L'ampoule des Pagures s'ouvre par l'action combinée de la dissolution de la suture au sommet, qui est son point le plus vulnérable, et de la pression interne accrue par entrée d'eau. Les appareils de Céphalopodes se dévaginent soit à la suite de déclenchement mécanique de la ligature, comme chez les Sepiidæ et Loliginidæ ; soit par l'imbibition et le décollement des bords de l'invagination de l'appareil éjaculateur (Sépiolidæ, Octopodes). En l'absence de dévagination, les spermatophores peuvent s'ouvrir par rupture de l'étui en un point quelconque, sous la pression augmentée des liquides internes.

Le rôle du pH du milieu actif est important dans le gonflement, la lyse et les coagulations de tous les spermatophores. Cependant le sens et le degré des modifications sont variables suivant les espèces, dans chacun des groupes.

De même, l'influence de la pression osmotique des sels, des cations, des oxydants, des réducteurs et des enzymes, sont comparables dans les deux groupes zoologiques ; compte tenu des variations individuelles et spécifiques.

Tous ces faits viennent confirmer la parenté chimique des constituants des spermatophores dans les deux groupes.

L'intervention d'une sécrétion femelle sur l'ouverture du spermatophore n'a pu être démontrée, ni dans l'un, ni dans l'autre groupe : les macérations d'organes génitaux restent sans effet. C'est la conclusion à laquelle arrivent aussi nos prédécesseurs, MOUCHET et BLOCH.

L'action inhibitrice de substances à l'intérieur du tractus mâle peut être mise en évidence chez les Céphalopodes. A cet égard, le liquide interne de l'étui des appareils, dilué dans l'eau, produit un ralentissement de la vitesse des ouvertures. De même, les macérations de poche de NEEDHAM de *Sepia* et d'*Eledone* sont efficaces pour retarder ou même arrêter les déhiscences. Nous n'avons pas pu évaluer de différence entre l'action des régions distale et proximale de cette poche.

d) *Comparaison histologique.*

Nous avons seulement étudié le canal déférent d'*E. prideauxi* du point de vue histologique. Les similitudes entre les différents spermatophores de Pagurides et leur mode d'élaboration décrit par MOUCHET font prévoir que le conduit génital fonctionne de la même façon dans tout le groupe. Les variations ne porteront que sur les régions sécrétrices des substances supplémentaires comme les pédicules et les voiles, qui n'existent pas chez *E. prideauxi*.

L'histologie des voies génitales mâles de Céphalopodes a été étudiée par T. BLANCQUAERT, chez *Sepia officinalis*. Dans ce groupe aussi, l'analogie anatomique et morphologique des conduits et des appareils des diverses espèces suggère qu'ils sont élaborés par des processus superposables. L'appareil génital mâle est plus complexe chez les Céphalopodes que chez les Pagurides, où il est formé par un tube unique à paroi sécrétrice, sans aucun diverticule. Celui des Céphalopodes comprend plusieurs parties séparées par des constrictions (fig. 69) ; ce sont, après le canal déférent proprement dit, les vésicules séminales I, II, III, tou-

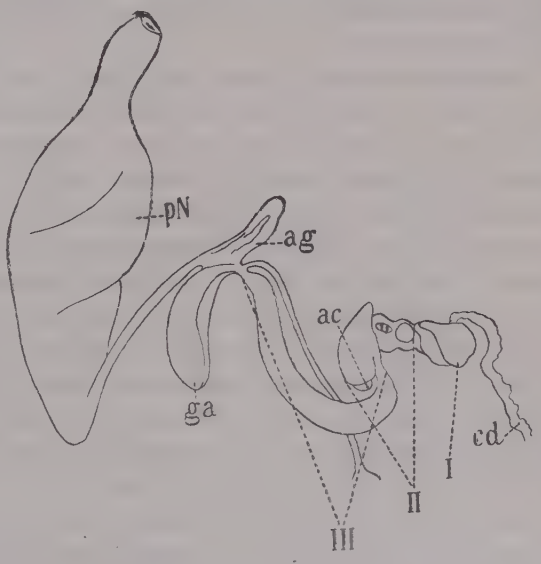


Fig. 69. Schéma du tractus génital mâle de *Sepia officinalis* (d'après BLANCQAERT).
I, II, III, = vésicules séminales.
ac = appendice en cédille.
ag = appendice de la glande accessoire.
ga = glande accessoire.
cd = canal déférent.
pN = poche de NEEDHAM.

tes à parois glandulaires. D'autres glandes forment des diverticules déversant leur produit successivement autour du spermatophore en voie d'élaboration : tels sont l'appendice en cédille de la vésicule séminale II, la glande accessoire et la glande tubulaire logée dans l'appendice de la précédente.

Blancquaert a bien établi quelles étaient les régions sécrétrices de chaque partie du spermatophore. Il en a décrit la cytologie sans, cependant, rechercher à l'aide de techniques motochondriales, ni des imprégnations métalliques, la naissance des grains de sécrétion au sein des cellules. Ceux-ci, qu'ils soient acidophiles, basophiles ou mucoïdes, apparaissent sous leur état définitif dans le cytoplasme avant d'être expulsés par un mode mérocrine dans la lumière du conduit. Ailleurs, les cellules, dont tout le cytoplasme s'altère en devenant métachromatique (« dégénérescence muqueuse » de Blancquaert) vident leur contenu. Les produits déversés sont modelés par les mouvements du canal, mais ils ne subissent pas de modifications venant changer leurs propriétés tinctoriales. Chez *E. prideauxi*, au contraire, nous avons vu que la substance de la coque n'est pas formée à l'intérieur des cellules, mais est émise dans la lumière, sous une forme fluide qui prend peu à peu ses colorations propres. L'embase est aussi produite par le mélange de plusieurs constituants (parasomes, noyaux, dictyosomes) qui perdent certaines de leurs propriétés en subissant une dégradation, peut-être de nature enzymatique.

Certaines substances du spermatophore de Céphalopode subissent cependant des modifications au cours de leur trajet dans le canal génital, mais elles ne sont pas décelables par les techniques de coloration. Ces substances, d'abord visqueuses, sont réparties suivant leurs destinées respectives dans le spermatophore et deviennent plus solides en durcissant. Ce processus a lieu, pour l'étui, au passage de l'appareil dans la poche de Needham. Quand il est encore dans le canal déférent distal, il est mou et extensible (mais pas élastique) ; sa longueur est supérieure à ce qu'elle sera en définitive, une fois durci, dans la poche de Needham.

Le même phénomène s'observe chez *E. prideauxi*, dont la coque, primitivement molle et étirable, acquiert sa rigidité, dans le conduit, à partir de la fin de la deuxième spirale. Nous n'avons pas mis en évidence les substances qui interviennent manifestement pour effectuer ce durcissement. Blancquaert suggère la possibilité de l'imbibition de la couche périphérique de l'étui par un liquide provenant de la glande accessoire, pour la rendre différente des autres tuniques construites en même substance et lui donner sa consistance subcartilagineuse. Mais si cette sécrétion existe bien, ce n'est pas elle qui donne sa rigidité à l'étui, car il est encore mou après la différenciation des tuniques. En tous cas, nous ignorons quelle peut-en être la nature.

Dans le cas de certaines scléroprotéines, on connaît le phénomène qui intervient : pour l'oothèque de la Blatte et la cuticule d'Insectes, Pryor, (1940) a montré qu'il s'agissait d'un « tannage » des protéines constitutives par la sécrétion d'un orthodiphénol. Les recherches de Lafon (1941) confirment cette manière de voir.

Cet ensemble de faits nous permet de comprendre ce que nous avons appelé la

« maturation » des spermatophores. Ce terme exprime les modifications lentes et progressives des propriétés chimiques présentées par les appareils spermatiques, après leur formation et pendant leur séjour dans les milieux acides du canal déférent et des réservoirs d'attente. Pour nous, la maturation est produite à la fois par les ions H^+ et surtout par des réactions entre les divers colloïdes sécrétés par les segments successifs des canaux déférents et leurs glandes annexes. A cause de la viscosité considérable des produits de sécrétion, les réactions se propagent très lentement dans la masse ; ce qui explique la nécessité d'un temps assez long avant d'atteindre l'équilibre définitif.

Sauf le cas des Insectes, éclairci en partie par PRYOR, comme nous l'avons signalé, on ne sait rien sur la nature des phénomènes physico-chimiques qui s'accomplissent.

Chez les Pagurides et les Céphalopodes, le début du conduit sexuel fournit un mucus interspermatique qui s'ajoute à celui enrobant les produits génitaux à leur sortie du testicule. Chez les Céphalopodes, le flux spermatique est débité en portions successives dont chacune sera l'origine d'un spermatophore, puis une deuxième sécrétion vient former une membrane autour de chaque boyau spermatique isolé. Ce sera la première enveloppe très fine. Les autres membranes seront élaborées par dessus, dans les régions postérieures du tractus. Chez les Pagurides, cette première enveloppe demeurera la seule autour des spermatozoïdes ; elle est sécrétée en un boyau ininterrompu, ensuite divisé par des constrictions en tronçons dont chacun correspond à un spermatophore. Celui-ci prendra sa forme définitive quand l'embase et les autres parties annexes seront édifiées.

On ne trouve pas, chez les Pagures, de spermatophore normalement constitué et vide de sperme, tandis que chez *Sepia* il peut en exister. Il est possible que dans le premier groupe, l'arrivée normale du flux spermatique détermine le fonctionnement régulier du conduit déférent. En tous cas, des conditions anormales, comme la castration parasitaire, peuvent entraîner des malformations des appareils, d'une part, et l'élaboration d'ampoules vides, d'autre part (MOUCHET). Bien que la castration dûe au parasite puisse être unilatérale, il n'est pas prouvé que la constitution de spermatophores normaux soit sous la dépendance de la régularité du débit spermatique. Chez les Céphalopodes, nous avons trouvé un exemplaire de *S. officinalis* dont la poche de NEEDHAM ne contenait aucun spermatophore avec des spermatozoïdes. Le boyau spermatique était rempli d'un liquide muqueux. Le fonctionnement de ces appareils était normal. La présence de sperme n'est donc pas absolument nécessaire à la construction des spermatophores.

CHAPITRE II.

Origine et rôle des spermatophores.

I° L'ORIGINE ET LE RÔLE DES SPERMATOPHORES.

Le testicule produit les spermatozoïdes qui sont toujours mélangés à un liquide fort mal connu, qui provient en grande partie des reliquats cytoplasmiques de la spermiogenèse. Ce flux épais circule dans le canal déférent dont les parois musculeuses et glandulaires provoquent sa progression, en même temps qu'elles élaborent des fluides nouveaux incorporés à la masse. Ces fluides ont un double rôle :

1° lubrifier le canal ;

2° préserver et conserver les spermatozoïdes qui restent immobiles.

Le plus souvent, les spermatozoïdes mûrs, mais inertes, sont accumulés dans des réservoirs séminaux annexés à l'appareil mâle, ou des poches copulatrices, spermathèques, annexées aux organes génitaux femelles. Chez l'Abeille reine, cet emmagasinage peut durer plusieurs années.

Les spermatophores doivent être considérés comme une forme très spécialisée de ces dispositifs de conservation. Les spermies emmagasinées soit dans les organes annexes des appareils reproducteurs, soit dans les spermatophores, sont toujours immobiles, et n'entreront en activité que dans des conditions physico-chimiques très précises. Physiologiquement, on peut donc considérer les spermatophores comme des vésicules séminales transportables, dans lesquelles le sperme est conservé par un milieu chimique bien défini. On sait qu'il est possible, en pratique, de conserver le sperme des Mammifères par le froid et certaines substances chimiques et de les transporter à distance pour effectuer des fécondations artificielles (IVANOF). Cette conservation dure plusieurs semaines. En somme un spermatophore n'est autre chose, du point de vue physiologique, qu'un appareil correspondant à un tube réfrigéré d'IVANOF, mais où le froid est remplacé par un milieu chimique précis.

C'est le testicule qui semble fournir, à la fois, les gamètes et ce milieu chimique conservateur. Le reste du canal déférent donnerait surtout les enveloppes protectrices des appareils spermatiques.

Il y a parfois peu de spermatozoïdes dans chaque appareil, comme chez le Paguride *Clibanarius* ; mais il y en a toujours un certain nombre. Ce fait a permis à O. TUZET et J. MILLOT (1937) de distinguer les spermatophores des *spermiophores* des Ixodes, qui ne contiennent qu'un seul gamète par système. Ces dernières productions n'ont, en tous cas, pas la même origine que les premières.

Ainsi formé de substances solidifiées, rigides, le spermatophore devient un organe servant à véhiculer les spermatozoïdes sur l'individu du sexe opposé. On peut même considérer qu'il fonctionne dans certains cas comme organe copulateur transitoire. Il en est ainsi chez quelques Pulmonés (*Milax* et *Parmacella*) et chez les Octopodes. Leurs appareils se dévaginent dans l'oviducte qu'ils peuvent remonter jusqu'à l'ovaire comme chez *Eledone cirrhosa*.

Le spermatophore peut présenter divers degrés de complication chez les espèces qui en édifient. La forme la plus rudimentaire que l'on trouve est celle de masses spermatiques individualisées rencontrées dans le vagin de certains Lépidoptères et Coléoptères femelles. Puis on trouve des formes simples, comme celle des Pulmonés, composée d'un étui clos, de forme et d'épaisseur variables, sans dispositif d'ouverture. La libération des spermatozoïdes est due à la digestion des enveloppes par un ferment de l'atrium génital. Les réservoirs, en outres ouvertes des Insectes Locustides, en sont un autre exemple.

La forme d'une capsule bivalve renfermant les gamètes des Crustacés Brachyoures (1) est déjà un peu plus compliquée. L'ouverture se fait par dissolution de la suture, comme chez les Pagurides et les Galathéides.

Puis on trouve des formes de complexité croissante portant sur les enveloppes, le système d'ouverture, le dispositif adhésif. Les réservoirs qui seront fixés extérieurement sur la femelle possèdent des substances glutineuses, comme les appareils des Crustacés Macroures et Anomoures, ceux des Copépodes. Ceux d'un Insecte, le Grillon, ont des crochets de fixation. Le maximum de complication est atteint chez les Céphalopodes où un appareil éjaculatoire se constitue autour d'un système adhésif qui est libéré par dévagination. Celle-ci détermine la formation d'un appareil de second ordre, ou *spermatange*, fixé sur la femelle.

Chacune de ces dispositions spéciales des spermatophores correspond à un mode particulier de dépôt sur le corps de la femelle. C'est ainsi que ceux qui sont déposés autour de ses orifices génitaux diffèrent nettement de ceux que le mâle dépose à l'intérieur des oviductes ou du vagin. Les premiers sont pourvus d'un appareil de fixation, sans lequel ils tomberaient et seraient perdus. C'est le cas de quelques Lépidoptères, des Crustacés Macroures et Anomoures, des Copépodes, des Céphalopodes Décapodes. Les seconds en sont dépourvus, comme ceux des Crustacés Brachyoures, des Locustides, des Limacidae et des Octopodes (ces derniers les ont peut-être secondairement perdus).

Bien qu'ils aient des origines et des structures différentes, on peut rapprocher des spermatophores par leur rôle de porteurs de spermatozoïdes, les spermiophores des Ixodes et les appendices copulateurs des Aranéides. Les premiers dispositifs libèrent leur unique élément reproducteur par un processus de dévagination mal élucidé, rappe-

(1) D'après nos observations, les ampoules spermatiques sont, comme chez les Pagurides, constituées par 2 valves accolées suivant une ligne de suture ; elle sont plates, de diverses formes, et s'ouvrent par la tranche.

lant celui des spermatozoïdes des Crustacés Décapodes d'une part et ceux des spermatophores de Céphalopodes de l'autre. Les seconds sont des organes parfois très compliqués, différenciés sur les tarses des palpes maxiliaires. Ils fonctionnent comme des spermatophores pouvant alternativement se remplir et se vider ; les spermatozoïdes sont accumulés dans un réservoir et injectés dans les voies génitales de la femelle lors de l'accouplement.

Lorsqu'ils atteignent une certaine complexité, les spermatophores se forment par une série de processus rigoureusement enchaînés. Les uns dépendent de la structure anatomique du canal déférent qui joue le rôle d'un moule plus ou moins grossier donnant à l'appareil spermatique les grandes lignes de sa charpente. Les autres sont d'ordre réflexe qui précisent et parachèvent la construction. Certains de ces réflexes sont musculaires, d'autres sécréteurs. Les premiers tronçonnent le flux spermatique, modèlent l'ensemble ; les seconds apportent les matériaux dans un ordre précis. Le canal déférent peut ainsi se découper en segments successifs, dont l'activité se commande sans doute par voie réflexe, à partir du testicule. Ce n'est pas l'expulsion des spermies dans le canal déférent qui constitue l'excitation initiale, puisqu'on trouve des spermatophores normaux dépourvus de sperme. Ce fait conduit à admettre que c'est le liquide testiculaire intergamétique qui provoquerait essentiellement les réflexes moteurs et sécréteurs initiaux. Chaque segment déclencherait ensuite l'activité du tronçon suivant. On comprend ainsi la régularité pour ainsi dire mécanique de la production des spermatophores. Le canal déférent apparaît comme une sorte de machine automatique dont les diverses régions ou organes se commandent d'une façon très précise.

Distribution des spermatophores dans le règne animal.

Les spermatophores sont des productions assez répandues. Il semble cependant qu'on ne les rencontre guère que dans deux grands groupes zoologiques : celui des Arthropodes et celui des Mollusques. Chez les premiers, ils existent dans la classe des Crustacés où ils sont très répandus, et dans celle des Insectes. Parmi les seconds ils se trouvent chez les Céphalopodes, où ils sont la règle, et chez quelques Gastéropodes pulmonés.

Les Crustacés qui ont des spermatophores sont les Décapodes et les Copépodes. Les Insectes qui en possèdent sont cantonnés dans certains ordres (Orthoptères et Lépidoptères) et parfois limités à quelques genres seulement, parmi les Lépidoptères. On ne sait pourquoi certains genres en possèdent, tandis que d'autres, très voisins en sont dépourvus. Chez les Mollusques Pulmonés, certaines familles seules en ont : les Limacidæ, Arionidæ et Parmacellidæ.

2. Comparaison du spermatophore et de l'œuf.

Comme chez le mâle, l'appareil génital femelle se compose d'une glande produi-

sant les gamètes et communiquant avec l'extérieur par un canal plus ou moins compliqué. En circulant dans les voies évacuatrices, l'œuf, dans un certain nombre de groupes, s'entoure de productions accesssoires, et, dans certains cas, devient le centre d'appareils qui ne sont pas sans analogie avec les spermatophores.

Très souvent, les enveloppes de l'œuf sont individuelles ; et ce cas se rapproche de celui du spermiophore des Ixodes. Certains œufs. (Echinodermes, Insectes), sont entourés d'un chorion formé dans l'ovaire même, fréquemment par les cellules folliculaires; ce qui augmente l'analogie, puisque dans le spermiophore, c'est le cytoplasme de la spermatide qui fournit l'enveloppe de l'appareil.

D'autres œufs sont recouverts après la fécondation par diverses sécrétions pendant leur parcours dans les voies génitales et *non plus dans l'ovaire*. C'est le cas des œufs isolés de Gastéropodes Pulmonés , de nombreux Insectes (épichorion) de Sélaciens, de Reptiles, d'Oiseaux. Dans les pontes agglomérées par du mucus des Lamellibranches, de nombreux Gastéropodes, de Céphalopodes, comme *Loligo* et de nombreux Batraciens, on observe une légère complication, dûe à la réunion des gamètes dans une masse commune. Les produits sont élaborés par la paroi de l'oviducte devenue glandulaire, ou par des diverticules de celui-ci, d'importance variable, formant des glandes spécialisées appendues sur son trajet.

Les oothèques sont un peu plus complexes, car plusieurs œufs sont noyés dans un mucus commun, entouré d'une coque unique. On se rapproche davantage de la structure du spermatophore ; d'autant plus que cette coque, souvent dédoublée, présente des dispositifs spéciaux d'ouverture (opercules etc.).

Les sécrétions, dont certaines peuvent être fournies par des organes indépendants du tractus sexuel (glandes pédieuses des Gastéropodes, glandes nidamentaires de *Sepia*), sont émises sous forme fluide ou visqueuse, dont les plus externes durcissent et donnent de la résistance soit à la coque individuelle, soit à l'oothèque collective. Les substances internes, les premières déversées, restent en général molles ou liquides. Les phénomènes de durcissement interviennent à la périphérie et relèvent souvent de l'action de l'air ou de l'eau (pontes d'Insectes, de *Sepia*) ; mais ils peuvent aussi être sous la dépendance de sécrétions spéciales comme PRYOR l'a montré pour les oothèques de Blatte, ou comme en sécrètent la glande pédieuse de certains Gastéropodes Prosobranches (FRANC, inédit.).

La ressemblance des spermatophores avec les oothèques se poursuit dans la manière dont ces deux sortes d'appareils se constituent. Dans les deux cas, il s'agit de productions façonnées dans le conduit à partir de substances déversées autour de petits paquets égaux de gamètes (1). Dans les deux cas, une substance adhésive peut

(1) Toutefois, ces substances, tant mâles que femelles, peuvent être émises et modelées hors de la présence des éléments reproducteurs, comme nous l'avons vu pour les spermatophores de *Sepia officinalis* et comme WINTREBERT (1934) l'a décrit pour les capsules ovulaires de *Scylliorhinus canicula*. Nous n'avons, cependant, pas remarqué d'action évidente des spermatozoïdes sur la constitution de l'appareil spermatique, analogue à celle que WINTREBERT voit exercée par l'ovule sur ses enveloppes.

venir assurer la fixation de l'appareil sur un support. Il y a une différence, toutefois : celle des oothèques est déversée au moment de l'expulsion de la ponte, tandis qu'elle est formée lors de l'élaboration de l'appareil entier, dans le spermatophore. En d'autres termes, le réflexe de sécrétion est plus distinct dans le cas des pontes.

Il existe une autre divergence marquée entre les deux sortes de formations dans la durée de leur séjour à l'intérieur des canaux qui les ont élaborés : les spermatophores sont conservés assez longtemps dans les réservoirs affectés à cet emmagasinement chez le mâle, tandis que les pontes sont évacuées peu après leur constitution, et au fur et à mesure de leur formation. Inversement, ces derniers sont appelés à durer plus longtemps dans le milieu extérieur que les appareils mâles. La fixation des pontes est, en général, plus résistante que celle des spermatophores. Elle est effectuée par un ciment complètement solidifié sur place au lieu de rester visqueux comme dans les productions spermatiques.

L'analogie de constitution permet encore de rapprocher les spermatophores des embryophores de Cestodes. Ces derniers sont des productions des organes génitaux femelles, au même titre que les œufs et les pontes ; mais elles sont édifiées autour de l'œuf pendant le cours de son développement dans l'utérus et protègent l'embryon, à l'état de vie ralentie, dans le milieu extérieur, avant de poursuivre son évolution chez un hôte intermédiaire.

Les embryophores sont formés d'au moins trois enveloppes successives, dont l'externe est une coque résistante, et relativement étanche. Certaines des membranes internes sont formées de substances analogues à celles qui entrent dans la composition des spermatophores.

En définitive, dans les deux sexes, les sécrétions des glandes génitales déclenchent, dans les voies évacuatrices, des réflexes moteurs et sécrétoires de même type fondamental, aboutissant à des productions de même ordre. Mais il semble que, d'une façon assez générale, chez la femelle, les premières sécrétions du moins restent fluides ou visqueuses et serviront de nourriture à l'embryon. Ces substances diffèrent chimiquement assez peu de celles du spermatophore. Il est probable qu'elles prennent naissance aux dépens des mêmes matériaux primitifs, mais que leur évolution chimique diverge légèrement. Peut-être pourrait-on penser que cette divergence serait l'effet d'hormones particulières, sans doute assez voisines les unes des autres, et sécrétées spécialement par chaque sexe. On aurait alors quelque chose de comparable aux hormones génitales des Vertébrés ; simple hypothèse de travail, qu'aucun fait précis ne permet actuellement de contrôler.

3. Comparaison des spermatophores avec les nématocystes et avec les spores de Cnidosporidies.

Les spermatophores, et plus particulièrement ceux des Céphalopodes, peuvent être rapprochés à différents égards de productions spéciales à certains groupements

zoologiques inférieurs : les nématocystes qui se trouvent chez tous les Cœlentérés, les spores des Cnidosporidies et les cnidocystes du Péridinien *Polykrikos*.

L'analogie des productions spermatiques et des cnidocystes a déjà été soulignée par WEILL (1927) dans son étude du spermatophore de *Sepiola*.

Le rapprochement entre ces divers organites peut se faire des différents points de vue morphologique, physiologique et fonctionnel.

1° *Comparaison morphologique.* — Ces diverses formations sont caractérisées par la présence d'une enveloppe (étui ou capsule) solide et semi-perméable, dans laquelle sont enfermés un contenu variable (éléments reproducteurs, liquide plus ou moins urticant, filament) et un appareil de déhiscence. Celui-ci est construit sur un même type et comprend essentiellement un tube invaginé plus ou moins long, baigné par un milieu fluide dans lequel il existe une certaine pression. Le système est fermé par un dispositif (opercule, ligature ou suture) qui constitue une région de moindre résistance, normalement plus sensible aux facteurs de déhiscence que le reste de la coque.

2° *Comparaison du mode de fonctionnement normal.* — Dans les conditions naturelles, les diverses productions se comportent de façon identique, en s'ouvrant par la dévagination unique et irréversible de l'appareil de déhiscence. Il n'y a d'exception que dans le cas des cnidocystes de *Polykrikos Schwartzi* (CHATTON, 1914) qui ne fonctionnent pas dans l'animal vivant, mais seulement hors de l'organisme, dans les conditions expérimentales, ou sous l'effet des agents fixateurs.

Le déterminisme de ce fonctionnement est sous la dépendance de conditions internes mal connues, réunies sous le terme imprécis de « maturité », et de conditions externes mieux définies. Les premières relèvent sans doute de transformations chimiques des substances constitutives de ces organites au cours de leur évolution intratissulaire (nématocystes et spores) ou dans les voies génitales (spermatophores). Les conditions externes reconnues par WEILL (1934) et par CHATTON sur les nématocystes, par MOUCHET, WEILL, FORT et nous-mêmes sur les spermatophores, comprennent l'action dominante de phénomènes d'endosmose et parfois des actions mécaniques (traction du filament des spermatophores de certains Céphalopodes).

L'appareil éjaculateur du nématocyste, une fois dévaginé, présente, comme celui du spermatophore de Céphalopode, un dispositif pour se fixer aux corps étrangers. Il est formé par des épines, variables suivant la catégorie de cnidocystes, tandis que des substances glutineuses adhésives jouent ce rôle dans les productions spermatiques.

3° *Comparaison des propriétés physiologiques dans les conditions expérimentales.* — Les auteurs qui ont provoqué le fonctionnement des divers organites à l'aide d'agents physico-chimiques multiples ont abouti à des résultats d'une homologie significative. L'emploi de ces méthodes déclenche le plus souvent la déhiscence suivant le mécanisme normal, mais certains réactifs déterminent aussi des ouvertures sans que fonctionne l'appareil éjaculatoire : ce sont les cas d'éclatement « en bombe » de WEILL

de la rupture des capsules de *Polykrikos* et de l'étui des spermatophores de Céphalopodes.

Parmi les milieux expérimentaux efficaces, certains ont un effet à peu près général pour produire le déclenchement des différents appareils : tels sont les alcalis caustiques (THELOHAN, 1895 ; KUDO. 1918 ; etc. sur les spores de Cnidosporidies ; WEILL, sur les nématocystes et nous-mêmes sur les spermatophores). D'autres sont actifs sur les productions de certains groupes (l'eau oxygénée sur les spores, d'après KUDO ; les ferments digestifs pepsiques sur les nématocystes et tryptiques sur les spermatophores ; l'eau de mer sur les cnidocystes de *Polykrikos*). Mais le plus souvent, les actions sont nettement spécifiques, comme c'est le cas avec les acides, l'eau distillée, l'eau de mer, etc, sur les productions d'origines différentes.

Certains facteurs s'opposent aux déhiscences comme nous l'avons vu sur les appareils spermatiques. KUDO met en évidence l'antagonisme des ions H^+ à l'action de l'eau oxygénée et au contraire, le rôle synergique, des ions OH^-. CHATTON montre que les acides dilués empêchent les éclatements des cnidocystes.

En plus des différences spécifiques, on constate, tant sur les spores de Cnidosporidies que sur les nématocystes et les spermatophores, des variations individuelles des organites eux-mêmes, qui ne répondent pas tous par leur dévagination aux influences externes : un nombre variable d'entre eux restent inertes. Ces variations proviennent sans doute des conditions internes différentes, correspondant à des degrés de maturité variables.

Les spermatophores diffèrent cependant des nématocystes et des cnidospores par leur absence de réactivité après leur dessication, dont on sait qu'elle n'a d'influence notable sur les productions des Cœlentérés et des Protozoaires qu'au bout d'un temps souvent très long.

4° *Comparaison des rôles des divers organites.* — La fonction de dissémination des gamètes, propre aux spermatophores n'est assimilable qu'à celle des spores de Cnidosporidies. Ces dernières contiennent, en effet, l'amibe qui attend le retour des conditions favorables pour continuer son évolution dans un nouvel hôte. Comme les enveloppes des spermatophores, comme les membranes de l'œuf, la coque de la spore préserve le germe placé à son intérieur des atteintes du milieu externe défavorable. Il n'en va pas de même pour les nématocystes des Cnidaires et du *Polykrikos* qui ne contiennent aucun élément vivant nucléé dans leur capsule. Ils ne renferment que des produits anhistes, liquides, épineux ou filamenteux qui ont dans de nombreux cas, des propriétés perforantes et urticantes.

RÉSUMÉ GÉNÉRAL ET CONCLUSIONS

Dans ce travail, nous apportons sur certains spermatophores tout un ensemble de documents et de résultats originaux.

Chez les *Pagurides*, nous avons montré qu'ils sont toujours formés de deux valves symétriques réunies par une suture maintenue fermée par un ciment spécial. Nous avons étudié la nature chimique des diverses parties de ces appareils spermatiques, ce qui n'avait pas encore été fait. Elles sont formées de substances de soutien complexes. Ce sont des glucoprotéides, dont certains possèdent comme groupement prosthétique un ester-sulfurique de polyoside, voisin de celui des mucoprotéides. Ce groupement est associé à un protéide caractérisé surtout par la présence d'acides thioaminés. Comme acides aminés, nous avons trouvé, de plus, dans ce protéide de la tyrosine, du tryptophane, de l'arginine.

Les autres substances glucoprotéidiques (de l'embase et des pédicules) contiennent ces mêmes aminoacides, mais n'ont pas le même groupement glucidique ; nous n'avons pas pu déterminer sa nature exacte.

Nous avons ensuite étudié l'action de nombreux facteurs physico-chimiques sur l'ouverture des spermatophores de Pagures. Tour à tour l'influence de la pression osmotique, des ions H^+ et OH^-, de divers sels, de milieux oxydants, réducteurs, diastasiques, a été examiné et nous arrivons à conclure que l'ouverture de ces spermatophores n'est pas un phénomène simple. Les deux facteurs principaux sont, d'une part, l'imbibition par l'eau des constituants internes et, d'autre part, la dissolution du ciment qui maintient les valves jointes.

Les actions les plus remarquables sont données par les milieux alcalins ; les acides, les réducteurs, surtout le sulfure d'ammonium, les cations alcalins et alcalino-terreux et les solutions diastasiques.

D'une façon générale, les ions OH^- provoquent le gonflement, et partant, les les déhiscences, avec un maximum d'efficacité à pH 12. Les ions H^+ pénètrent dans les spermatophores avec une vitesse variable, et produisent des éclatements, chez certaines espèces seulement. Les cations exercent toujours une action inhibitrice sur l'endosmose et sur l'ouverture des ampoules. Les réducteurs sont plus actifs sur la dissolution de la suture et la distension de la coque que sur le gonflement du contenu ampullaire. Les ferments protéolytiques d'Invertébrés et de Vertébrés, surtout ceux d'origine hépatopancréatique, provoquent l'ouverture par la digestion du ciment sutural.

Toutes ces actions sont exposées en détail dans les chapitres II et III de la première partie. Elles nous amènent à conclure que l'ouverture du spermatophore est soumise à deux séries de conditions dont les unes dépendent de sa structure, les autres des propriétés physico-chimiques des substances qui les forment.

Nous avons été amenée à rechercher l'origine de ces substances dans les cellules des diverses régions du canal déférent où elles ont été élaborées. Les phénomènes intra-cellulaires semblent être de deux sortes : ceux qui aboutissent à la formation de la coque prennent naissance au contact du chondriome, les autres, qui fournissent l'embase, sont sous la dépendance active de noyau, sans qu'aucune émission de produits nucléaires ait pu être remarquée, si ce n'est l'expulsion de noyaux entiers, déjà altérés. L'action de substances indécelables s'exerce ensuite sur les produits émis pour leur donner leurs propriétés définitives.

Chez les *Céphalopodes*, nous avons effectué les mêmes recherches et appliqué les mêmes méthodes. Il est curieux de constater que nous avons obtenu des résultats très semblables au point de vue de la constitution chimique des spermatophores et de leurs propriétés générales. Ce sont encore des glucoprotéides, différant, en somme, fort peu de ceux qu'on trouve chez les Pagurides. Nous avons pu y déceler les mêmes acides aminés, un groupement prosthétique sucré très voisin. Les seules différences notables sont la présence de phénylalanine dans l'appareil de déhiscence et sa forte teneur en tryptophane dans la région du sac.

La structure plus compliquée des spermatophores conduit à des processus d'ouverture plus variés. Il peut y avoir dévagination ou éclatement. Chez certaines espèces, le déclenchement de la dévagination se fait sous l'action de la pression interne, toujours importante, qui s'exerce sur la ligature lorsqu'elle est imbibée d'eau ou subit une traction mécanique. Chez d'autres, la ligature n'est pas sensible ; il y a éclatement par imbibition et gonflement des milieux intérieurs de l'étui. C'est ce dernier mode que l'on observe le plus généralement dans les milieux physico-chimiques actifs. Ceux-ci se rangent en deux catégories, du point de vue de leur action sur les spermatophores : l'une comprend les milieux favorisant les dilatations des substances et par suite les éclatements, l'autre groupe les agents qui s'opposent à la perméabilité et retardent ou inhibent les déhiscences.

Parmi les premiers se placent les ions alcalins, le permanganate de potassium ; les agents réducteurs (le sulfure d'ammonium) ; les ferments protéolytiques de divers organes de l'espèce et la trypsine commerciale.

Les autres comprennent les ions H^+, les cations alcalins et alcalino-terreux (le calcium en particulier) ; des solutions oxydantes (l'eau oxygénée, le bichromate de potasse) ; les macérations de produits génitaux mâles (mucus de la poche de Needham et liquide intérieur des spermatophores).

D'autres facteurs n'ont pas d'action nette, comme la viscosité ou la pression osmotique des solutions, de même que les macérations de produits génitaux femelles.

L'emploi simultané ou successif de plusieurs facteurs révèle des effets antago-

nistes ou synergiques entre eux (rôle des cations et des ions H^+ opposé à celui des ions OH^-).

Dans le comportement des spermatophores dans les conditions expérimentales il y a non seulement des variations individuelles, communes à toutes les espèces, mais aussi des différentes spécifiques (les spermatophores d'*Octopus* sont beaucoup plus sensibles à tous les agents externes.)

On observe aussi divers états de maturité des spermatophores selon la région de leur provenance dans la poche de NEEDHAM. Les plus mûrs sont les plus proches de l'orifice de cet organe.

En comparant entre elles les propriétés des spermatophores de ces deux groupes d'Invertébrés on constate que les phénomènes d'imbibition ont une importance capitale sur leur physiologie. Leur grande analogie à cet égard provient de la similitude de la nature chimique de leurs constituants ; elle relève même, d'une façon plus large, de leur qualité de protéides. Les variations de leur perméabilité suivent, en effet, les mêmes règles que celles de protéides inertes tels que l'albumine, la gélatine, les kératines, les mucoprotéides et même les constituants de cellules vivantes (spermies, œufs).

L'étude histologique du conduit déférent d'*E. prideàuxi* montre que la succession des processus élaborateurs ne diffère pas essentiellement de celle que BLANCQAERT observe chez *Sepia*, si ce n'est par leur plus grande simplicité et le plus petit nombre de produits différents qui entrent dans leur composition. La spécialisation des éléments sécréteurs est plus grande chez les Céphalopodes où chaque catégorie cellulaire émet son produit, déjà figuré dans son cytoplasme, pour former une partie bien définie du spermatophore. Chez le Pagure, les substances subissent un remaniement dans le conduit après leur émission.

Les processus glandulaires des tractus sexuels mâles qui aboutissent à la formation de spermatophores sont très semblables à ceux qui, dans le sexe femelle interviennent dans l'élaboration des enveloppes de l'œuf. L'analogie est surtout frappante avec la constitution des oothèques de Mollusques et d'Insectes qui renferment, comme les productions spermatiques, de nombreux gamètes. Les substances, mâles ou femelles ainsi déversées autour des éléments reproducteurs, et dont les plus externes deviennent rigides, ont, dans les deux sexes, un même rôle protecteur et conservateur. Elles sont, cependant, étroitement adaptées à leurs destinées respectives différentes : c'est ainsi que l'œuf baigne dans un milieu nutritif visqueux, qui assurera le développement de l'embryon ; tandis que les spermatozoïdes sont noyés dans un fluide qui conditionne leur immobilité et leur survie, car on ne peut affirmer, bien que cela soit très possible, qu'il y ait des échanges nutritifs entre eux.

Les spermatophores des Céphalopodes s'apparentent, d'autre part aux nématocystes des Cœlentérés et de *Polykrikos* et aux spores de Microsporidies. Ce rapprochement se justifie par l'analogie qu'il y a dans la structure, la physiologie et jusque dans le rôle, (en ce qui concerne les spores et les spermatophores) de ces diverses formations.

L'étude des spermatophores de Céphalopodes et de Pagurides montre la finesse des mécanismes qui règlent toutes les étapes de l'évolution de telles sortes de productions. Leurs constituants anhistes, provenant de processus cataboliques de cellules spéciales, remaniés sous des influences mécaniques et chimiques, aboutissent à la formation d'appareils ayant une structure propre, d'apparence inerte. Ils possèdent cependant des potentialités déterminées par la nature même de leurs protéides constitutifs et par leur agencement interne qui les rendent sensibles aux influences plus ou moins brutales du milieu externe. Ils y répondent par leur fonctionnement unique et irréversible. Par la suite, ayant rempli leur rôle, ils sont peu à peu désagrégés et disparaissent.

Il est frappant de constater que des processus intracellulaires d'une part, et la succession de sécrétions provenant des nombreuses catégories de cellules d'un tractus génital compliqué, de l'autre, aboutissent à la formation d'appareils aussi fondamentalement semblables entre eux que les spores de Microsporidies et les spermatophores. Il semble que l'on puisse voir dans les derniers l'image très simplifiée et fortement grossie, de quelques réactions générales se déroulant à l'intérieur des protides du cytoplasme mouvant.

BIBLIOGRAPHIE

ALDERS, N., 1927. — Beitrag zur Kenntnis des Seidenleims. — *Bioch. Zeitsch. t.* 183, *p.* 446.

ALEXEIEFF, A., 1913. — Recherches sur les Sarcosporidies — *Arch. Zool. Exp. et Gén.* 5*e série*, *t.* 51, *p.* 521.

ARGESEANU, S., et MAY, R., 1938. — Etudes différentielles sur la cellule embryonnaire et adulte. — *Arch. Anat. Micr. t.* 34, *p.* 441.

ARNOLD, K., 1910/11. — Eine farbenreaktion von Eiweisskörper mit Nitro-prussidnatrium. — *Zt. phys. Chem. t.* 70, *p.* 300.

ARON, M., 1923. — Etude cytologique de l'évolution du canal de WOLFF pendant l'activité sexuelle chez les Urodèles. — *C. R. Ass. Anat., Lyon.*

ASTBURY, W. T., et STREET, A., 1930-31. — X-ray studies of the structure of hair, wool and related fibres. I. General. — *Phil. Trans. Roy. Soc. T.* 230, *p.* 75.

ASTBURY, W. T., et WOODS, H. J., 1933-34. — id. II. The molecular structure and elastic properties of hair keratin. — *ibid.* T. 232, *p.* 333.

ASTBURY, W. T., 1936. — X-ray studies of protein structure. — *Nature*, T. 137., p. 803.

AUDUBERT, R., 1935. — Propriétés électrochimiques des Protéines. — *Hermann PARIS.*

BENOIT, J., 1925. — Recherches anatomiques cytologiques et physiologiques sur les voies excrétrices du testicule chez les Mammifères. — *Thèse Sciences, STRASBOURG.*

BINDFORD, R., 1913. — The germ cells and the process of fertilization in the Crab, *Menippe mercenaria. Journ. Morph. t.* 24, *p.* 147.

BINET, L., et WELLER, G., 1937. — Le Glutathion. — *PARIS, Hermann.*

BLANCQUAERT, T., 1925. — L'origine de la formation des Spermatophores chez les Céphalopodes décapodes. *La Cellule, Vol.*, 36, *p.* 317.

BLOCH, F., 1936. — Contribution à l'étude des gamètes et de la fécondation chez les Crustacés Décapodes. — *Trav. Stat. Zool. WIM. t.* 12, *p.* 183.

BLOCK, R. J., 1937. — On the nature of the proteins of the ectoderm : eukeratins and pseudokeratins. — *J. Biol. Chem, t.* 121, *p.* 761.

BLOCK, R. J., et HORWITT, M. K., 1937. — The basic amino-acids of proteins. *J. Biol. Chem. t.* 121, *p.* 99.

BODINE. — *Journ. Gen. Physiol. t.* 10, 1927.

BODINE et FINK. 1925. — Microelectrode. — *Journ. Gen. Physiol.* 7.

BRACHET, J., 1933. — Recherches sur la synthèse de l'acide thymonucléique pendant le développement de l'œuf d'Oursin. — *Arch. Biol. t.* 44, *p.* 519.

BRACHET, J., 1938. — Le rôle physiologique et morphogénétique du noyau. — *Act. Scient. HERMANN.*

BRACHET, J., 1940. — La localisation de l'acide thymonucléique pendant l'oogenèse et la maturation chez les Amphibiens. — *Arch. Biol. t.* 51, *p.* 151.

BRACHET, J., 1940. — La localisation des acides pentosenucléiques pendant le développement des Amphibiens. — *C. R. Soc. Biol. t.* 133, *p.* 90.

BRACHET, J., 1940. — Etude histochimique des protéines au cours du développement embryonnaire des Poissons, des Amphibiens et des Oiseaux. — *Arch. Biol. t.* 51, *p.* 167.

BRANDES, G., 1897. — Zur Begattung der Dekapoden. — *Biol. Centralbl. t.* 17, *p.* 346.

BROUSSY, J., 1932. — Contribution à l'étude histologique et histophysiologique du gésier des oiseaux et d'un processus spécial de kératinisation qui se produit à leur niveau. — *Thèse Médecine, MONTPELLIER.*

BROUSSY, J., 1931. — Contribution à l'étude histologique du gésier de Buteo vulgaris. — *C. R. Ass. Anat. t.* 26, *p.* 91.

CALVERY, H.O., 1933. — L'ovokératine de la poule. — *J. Biol. Chem.* T. 100, p. 183.

CASPERSSON et SCHULZ, 1938/1939. — Pentose nucleotides in the cytoplasm of growing tissues. — *Nature, t.* 142, *p.* 294. — *t.* 143, *p.* 602.

CHATTON, E., 1914. — Les cnidocystes du Péridinien *Polykrikos Schwartzi BUT.* *Arch. Zool. Exp. et Gén. t.* 54, *p.* 157.

DORFMAN, W. A., 1936. — A simple type of microelectrode for determination of pH and of rH. — *Protoplasma XXV*, *p.* 465.

DREW, 1919. — Sexual activities of the squid *L. pealii*. The spermatophore, its structure, ejaculation and formation. — *Journ. Morph. PHILADELPHIA*, *t.* 22, *p.* 318.

DUBOS, R. J., et THOMPSON. 1938. — The decomposition of a yeast nucleic acid by a heat resistant enzyme. — *J. Biol. Chem. t.* 124, *p.* 501.

DUVERNOY, M., 1853. — Fragments sur les organes de génération (Spermatophores dans la *Sépiola*). — *Mém. Ac. Sc. Inst. de France*, *t.* 23.

EMBERGER, L., 1921. — Recherche sur l'origine et l'évolution des plastides chez les Ptéridophytes. — *Thèse*, *LYON*.

ETTISCH, G., et SCHULZE, G. V., 1933. — Reaktion von Eiweisskörpen mit Säuren und basen. — *Bioch. Zeit. t.* 265, *pp.* 338-370.

FAURE-FREMIET, 1924. — L'œuf de *Sabellaria alveolata* L. — *Thèse*, *PARIS*.

— 1929. — *Ppma.* 6, *p.* 521.

— 1938. — Structure de la capsule ovulaire chez quelques Sélaciens. — *Arch. Anat. Micr. t.* 34, *p.* 23.

FAURE-FREMIET et BAUDOUY, C., 1938. — Sur l'ovokératine des Sélaciens. *Bull. Soc. Chim. Biol.* T. 20, p. 14.

FEYEL, P., 1929. — Constitution de la cellule excrétrice, rein des Batraciens, glande verte de l'Ecrevisse. — *C. R. Ass. Anat. t.* 24, *p.* 236.

FILHOL, J., 1937. — Phénomènes cytologiques de la sécrétion d'ascaridine, protéine intracellulaire des spermatozoïdes chez l'*Ascaris megalocephala*. — *Arch. Anat. Micr. t.* 33, *p.* 301.

FILHOL, J., 1937. — La cellule hépatique d'absorption chez quelques Gastéropodes pulmonés. — *Arch. Anat. Micr. t.* 33, *p.* 95.

FILHOL, J., 1938. — Recherches sur la nature des lépidosomes et les phénomènes cytologiques de la sécrétion chez les Gastéropodes pulmonés. — *Arch. Anat. Micr. t.* 34, *p.* 153.

FISCHER, E., 1925. — Recherches histologiques et histophysiologiques sur l'appareil excréteur des Crustacés Décapodes. — *PARIS*, *Masson*.

FORT, Guy, 1937. — Le spermatophore des Céphalopodes. Etude du spermatophore d'*Eledone cirrhosa* (Lamarck, 1799) — *Bull. Biol. France et Belg. t.* 71, *fasc.* 3, *p.* 357.

FORT, Guy, 1941. — *Eledone* LEACH et *Acantheledone*, N.G., 2 genres fondés sur la structure des spermatophores. — *C. R. Ac. Sc. t.* 212, *p.* 724.

FORT, G. 1941. — Le spermatophore des Céphalopodes. Etude du spermatophore d'*Eledone moschata*. *Bull. Biol. Fr. et Belg.* T. 75, p. 249.

FREUNDLICH, H., — Kapillarchemie. — *LEIPZIG* 1922 et 1932.

GARRAULT, H., 1933. — Substance glycoprotéique extraite du tissu mucoélastique de la crête de coq. — *C. R. Soc. Biol. t.* 113, *p.* 158.

GARRAULT, H., 1934. — Etude histochimique de quelques tissus conjonctifs muqueux. — *Arch. Anat. Micr. t.* 30, *p.* 3.

GAUTHERET, R. J., 1935. — Recherches sur la formation de chlorophylle dans les racines et la réduction des sels d'argent par les chloroplastes. — 2*e thèse*, *PARIS*.

GELLHORN, E., et REGNIER, 1936. — La perméabilité en physiologie et en pathologie générale. — *PARIS, Masson.*

GILSON, G., 1885/86. — Etude comparée de la spermatogénèse chez les Arthropodes. *La Cellule*, t. 1 et 2.

GIROUD. A., 1931. — Sur les substances à fonction sulfhydrile des tissus. — *Bull. Soc. Chim. Biol. t.* 13, *p.* 141.

GIROUD, A., 1931. — Substances à fonction sulfhydrile du protoplasma. — *Protoplasma*, *t.* 12, *p.* 23.

GIROUD, A., 1930. — Substances à fonction sulfhydrile du protoplasma. *C. R. Ass. Anat. t.* 25, *p.* 144.

GIROUD, A., et BULLIARD, H., 1931. — Sur les substances à fonction sulfhydrile de l'épiderme. — *Bull. Soc. Chim. Biol. t.* 13, *p.* 138.

GIROUD, A., et BULLIARD, H., 1934. — Mise en évidence des substances à fonction sulfhydrile. — *Bull. Hist. app. t. XI. p.* 169.

GIROUD, A., et BULLIARD, H., 1929. — Substance à fonction sulfhydrile de l'épiderme. — *C. R. Ass. Anat. t.* 24, *p.* 248.

GIROUD A., et BULLIARD, H., 1928. — Glutathion et kératine. — *C. R. Ass. Anat. t.* 23, *p.* 167.

GIROUD, BULLIARD, GIBERTON, 1929. — Y a-t-il une accumulation de soufre précédant la kératinisation ? — *C. R. Soc. Biol. t.* 101. *p.* 1024.

GIROUD, A., et BULLIARD, H., 1931. — Les substances à fonction sulfhydrile du protoplasme et leur mise en évidence. — *C. R. Ass. Anat. t.* 26, *p.* 198.

GIROUD, BULLIARD, LEBLOND, 1933. — Kératinisation dure et kératinisation molle. — *C. R. Ass. Anat.* 28*e Sess. p.* 357.

GIROUD, BULLIARD, LEBLOND, 1934. — Les deux types fondamentaux de kératinisation. — *Bull. Hist. app. t. XI, p.* 129.

GODDARD, D. et MICHAELIS, L., 1934. — A study on keratin. — *J. Biol. Chem.* T. 106. P. 605.

GRYNFELT, J., 1937. — Etude du processus cytologique de la sécrétion mammaire. — *Arch. Anat. Micr. t.* 33, *p.* 177.

GUILLIERMOND, 1921. — Les constituants morphologiques du cytoplasme. — *Bull, Biol. Fr. et Belg.*

GUYON, L., 1931. — Etude sur le cartilage, substance intercellulaire, collagène et mucine. — *C. R. Ass. Anat. Varsovie, t.* 26. *p.* 239.

HADJOLOFF, 1928. — Phénomène de fluorescence déterminée par la lumière de Wood au niveau de la peau de la grenouille. — *Bull. Hist. App. t.* 5, *p.* 37.

HAMON, M., 1937. — Les mécanismes produisant la déhiscence des spph d'*Eupagurus Prideauxi*. Leach. — *C. R. Ac. Sc. t.* 204, p. 1.504.

HAMON, M., 1939. — La constitution chimique des spermatophores de Crustacés supérieurs du groupe des Pagurides. — *C. R. Soc. Biol., t.* 130, *p.* 1312.

HAMON, M., 1939. — Détermination de la présence de certains acides αaminés dans les spermatophores des Pagurides. — *C. R. Soc. Biol. t.* 131, *p.* 109.

HAMON, M., 1939. — Les constituants chimiques des enveloppes des spermatophores des Céphalopodes. — *C. R. Ac. Sc. t.* 208. *p.* 387.

HAMON. M., 1939. — Caractérisation de quelques acides αaminés entrant dans la constitution des spermatophores des Céphalopodes. — *C. R. Ac. Sc. t.* 208, *p.* 835.

HAMON, M., 1942. — Histologie du canal déférent d'*Eupagurus prideauxi* LEACH.— *C. R. Soc. Biol. t.* 135. *p.* 1611.

HAMON, M., 1942. — Les processus sécrétoires du canal déférent d'*Eupagurus prideauxi* LEACH. — *C. R. Soc. Biol. t.* 135. *p.* 1615.

HARRIS, L., 1923. — On the existence of an unidentified sulphur grouping in the protein molecule. — *Proc. Roy. Soc. B.* 94, *p.* 426.

HEDIN, 1891. — Der Hæmatokrit. — *Skand. Arch. Physiol. t.* 2, *p.* 134 et 368.

HOSSELET, C., 1927. — Etude du vacuome et du chondriome des glandes salivaires des Phryganides. — *C. R. Soc. Biol. t.* 97, *p.* 450.

HOSSELET, C., 1929. — Le chondriome et l'appareil de Golgi dans les glandes séricigènes des Phryganides. — *C. R. Soc. Biol. t.* 101, *p.* 87.

HOSSELET, C., 1931. — Contribution à l'étude du chondriome chez les Insectes. (Culicides et Phryganides). — *Arch. Zool. exp. et gén. t.* 72.

JACKSON. H. G. 1913. — *Eupagurus bernhardus. — Pr. Trans. Liv. Biol. Soc. t.* 27, *p.* 495.

JACQUIERT, C., 1938. — Recherches sur l'oogénèse des Araignées et les corps vitellins de Balbiani. — *Thèse, PARIS.*

JOHNSTONE. J., 1923. — An introduction to Oceanography. — *LIVERPOOL.*

JORDAN-LLOYD, D., 1930. — The absorption of water by gelatin. — *Bioch. Journ. t.* 24., *p.* 1460.

JORDAN, LLOYD, D., et PLEASS, 1927. — The absorption of water by gelatin. — *Bioch. Journ. t.* 21, *p.* 1352.

JORDAN, LLOYD, D., et PLEASS, 1928. — The absorption of water by gelatin. — *Bioch. Journal. t.* 22, *p.* 1007.

JORDAN-LLOYD, D., 1938. — Recent developments in our knowledge of the protein molecule. — *Perpectives in Biochemistry. — CAMBRIDGE.*

KARRER et FRANCOIS von, 1929. — Hydrolyse enzymatique de la chitine. — *Helv. Chim. Acta, t.* 12, *p.* 986.

KARRER et HOFMAN, 1929. — Dégradation enzymatique de la chitine et chitinase. — *Helvet. Chim. Acta, t.* 12, *p.* 616.

KOHLER, D., 1932. — Imbibition des Laminaires dans différentes solutions d'électrolytes. — *C. R. Soc. Biol. t.* 109., *p.* 334.

KOHLER, D., 1936. — Contribution à l'étude des antagonismes ioniques dans le phénomène d'imbibition. — *C. R. Soc. Biol. t.* 121, *p.* 1308.

KOLTZOFF, N. K., 1906. — Stüdien über die Gestalt der Zelle. Untersuchungen über die Spermien der Dekapoden, als Einleitung in das problem der Zellengestalt. — *Arch. f. mikr. Anat. t.* 67, *p.* 364.

KUDO. R., 1918. — Experiments on the extrusion of polar filaments of Cnidosporidian spores. — *Journ. Paras. t.* 4, *p.* 141.

KUNTZEL, A., 1929. — Untersuchung über die Quellung der Gelatine in wässerigen Lösungen von Saüren, Basen und Salzen und deren Gemische. — *Bioch. Zeit. t.* 209, *p.* 336.

KURKIEWICZ, Th., 1931. — Sur la fonction glycogénique du noyau cellulaire au cours du développement des œufs d'oursins. — *C. R. Ass. Anat. t.* 26, *p.* 343.

LAFON, M., 1941. — Sur l'élytre de quelques Coléoptères (Contribution à l'étude chimique du tégument des insectes) — *Bull. Soc. Zool. Fr. t.* 66, *p.* 173.

LAGUESSE, 1905. — Le Pancréas. — *Rév. Gén. d'Hist. t.* 1, *p.* 541.

LAMBLING, E., 1921 — Précis de Biochimie. — *PARIS, Masson.*

LANGERON, M., 1934. — Précis de Microscopie. — *PARIS, Masson,* 5e *éd.*

RAY LANKESTER, 1909. — A treatise on Zoology.

LAUNOY, L., 1903. — Contribution à l'étude des phénomènes nucléaires de la sécrétion. — *Thèse, PARIS.*

LECLOUX, J., VIVARIO, R., et FIRKET, J., 1927. — Teneur en glutathion du sarcome et des tissus normaux. — *C. R. Soc. Biol. t.* 97, *p.* 1823.

LEGENDRE, R., 1925. — La concentration en ions hydrogène de l'eau de mer. — *Presses Universitaires, PARIS.*

LENGERKEN, H. V., 1923. — Uber Widerstandsfähigkeit organischer Substanzen gehen natürliche Zersetzung. — *Biol. Zentralbl. t.* 43, *p.* 546.

LEPESCHKIN, 1938. — Allgemeine Kolloidchemie der lebenden Materie. — *DRESDEN u. LEIPZIG.*

LESPERON, L., 1937. — Recherches cytologiques et expérimentales sur la sécrétion de la soie. — *Arch. Zool. exp. et Gen. t.* 79.

LEVENE, P. A., 1925. — Hexosamines and Mucoproteines. — *Monographs on Biochemistry, LONDON.*

LISON, L., 1935. — Etudes sur la métachromasie. — *Arch. Biol. t.* 46, *p.* 599.

LISON, L., 1936. — Histochimie animale. — *Gauthier-Villars.*

LOEB, J., 1924. — Les Protéines. — *Trad. Mouton, PARIS.*

MANGENOT, G., 1922. — Recherches sur les constituants morphologiques du cytoplasma des Algues. — *Thèse, PARIS.*

MARCHAND. W., 1907. — Stüdien über Cephalopoden I. Der männliche Leitungsapparat der Dibranchiaten. — *Zeit. f. wiss. Zool. t.* 86.

MARCHAND, W., 1912. — Uber die Spermatophoren. — *Zoologica, Festschrift C. CHUN Heft.* 67.

MAZIARSKI, S., 1911. — Recherches cytologiques sur les phénomènes sécrétoires dans les glandes filières des larves des Lépidoptères. — *Arch. f. Zellfor. t.* 6.

MEYER, W. Th., 1911. — Die Spermatophore von *Polypus (Octopus) vulgaris.* — *Zool. Anz. t.* 37, *p.* 404.

MILLOT, J., — Contribution à l'Histophysiologie des Aranéides. — *Thèse, PARIS* 1926.

MILNE EDWARDS, — 1842. — Sur divers Mollusques. Spermatophores de Céphalopodes. — *Ann. des Sciences Naturel. 2ème Série, Biologie, t.* 18, p. 331.

MISSBACH, G., — *Protoplasma, t.* 3, *p.* 327, 1928.

MOUCHET, S., 1931. — Spermatophores des Crustacés Décapodes Anomoures et Brachyures et castration parasitaire chez quelques Pagures. — *Thèse, PARIS.*

MURRAY, E., et JACQUIERT, C., 1937. — Différenciation et régénération des cellules bordantes de l'estomac de Souris pendant la digestion. — *Bull. Hist. App. t.* 14, *p.* 106.

MURRAY, E., et JACQUIERT, C., 1937. — Evolution des cellules bordantes de l'estomac de Souris. — *Bull. Hist. Appli. t.* 14, *p.* 80.

NAEFF, A., 1921-1923-1928. — Die Cephalopoden (Systematik, Embryologie). — *Fauna e Flora del Golfo di Napoli*, 31.

NAEFF, A., 1912. — Teuthologische Notizen, 8. Die Familien der Octopoden. — *Zool. Anz. t.* 40., p. 194.

NAEFF, A., 1912. — Teuthologische Notizen. 6. Europäische Arten der Gattung *Eledone* Auct. — *Zool. Anz. t.* 39, *p.* 749.

NAKAHARA, W., 1917. — On the physiology of the nucleoli as seen in the silk gland cells of certains insects. — *Jour. of Morph. t.* 29, *p.* 55.

NEEDHAM J., et NEEDHAM D. M., 1925. — The hydrogen ion concentration and oxidation réduction potential of the cell interior. — *Proc. Roy, Soc. B.* 98, *p.* 259.

OSTERHOUT, W. J. V. 1922. — Some aspects of selective absorption. — *Jl. gen. Physiol. t.* 5, *p.* 225.

PAILLOT, A., et NOEL, R., 1928. — Recherches histo-physiologiques sur les glandes sericigènes et les pigments des larves d'Insectes. (*Bombyx mori* et *Pieris brassicae*). — *Bull. Hist. appl. t.* 5, p. 56.

PARAT. M., 1928. — Rapports du chondriome et du vacuome dans la « zone de Golgi » constitution de cette zone. — *C. R. Ass. Anat. t.* 23, p. 383.

PARAT, M., 1928. — Contribution à l'étude morphologique et physiolog. du cytoplasme. Chondriome, vacuome (appareil de Golgi). — *Thèse, Arch. Anat. Micr. t.* 24, *p.* 74.

PARAT. M., 1930. — Evolution phylo et onto-génétique du vacuome, du chondriome actif et du « système » ou de la « zone » de Golgi de la cellule animale. — *C. R. Ass. Anat.* t. 25, *p.* 238.

PAULI, W., et HANDOWSKY, H., 1910. — *Bioch. Zt. t.* 24, *p.* 239.

PAULI, W., et VALKO, E., 1933. — Kolloidchemie der Eiweisskörper. — *DRESDEN et LEIPZIG.*

POLICARD et PAILLOT, 1925. — Etude de la sécrétion de la soie à l'aide des rayons ultra-violets (lumière de WOOD). *C. R. Ac. Sc. t.* 181, *p.* 378.

POLONOVSKI, M., et Collab., 1941. — Eléments de Biochimie médicale. — *PARIS, Masson.*

POPOV, V., 1924. — Entwicklung der Spermatophoren bei *Diogenes varians* u. *Clibanarius misanthropus.* — *Bull. Ac. Sc. Leningrad, t.* 1, *p.* 185.

POTTS, F. A., 1906. — The modification on the sexual characters of the hermit crab caused by the parasite *Peltogaster.* — *Quart. Jour. Micr. Sc. t.* 50, *new. ser.*

PRYOR, M. G. M., 1940. — On the hardening of the cuticle of insects. — *Proc. Roy. Soc. t.* 128, *p.* 393.

PRYOR, M. G. M., 1940. — On the hardening of the ootheca of *Blatta orientalis.* — *Proc. Roy. Soc. t.* 128, *p.* 378.

RACOVITZA, E. G., 1894. — Mœurs et fécondation de *Rossia macrosoma.* — *Arch. de Zool. Exp. et Gén. t.* 2, *p.* 491.

RACOVITZA, E. G., 1894. — Accouplement et fécondation chez *Octopus vulgaris.* — *Arch. de Zool. Exp. Série* 3, *t.* 2, *p.* 21.

RACOVITZA, E. G., 1894. — Sur l'accouplement de quelques Céphalopodes *Sepiola Rondeletii*, *Rossia macrosoma*, et *Octopus vulgaris.* — *C. R. Acad. des Sc. t.* 118.

RADU, V., 1930. — Structure histologique et cytologique du canal déférent chez *Armadillidium vulgare* Latr. — *Arch. Zool. Exp. et Gén. t.* 70, *p.* 96.

RADU, V., 1931. — Etude cytologique de la glande surrénale des Amphibiens Anoures. — *Bull. Hist. App. t.* 8, *p.* 249.

RAPKINE et WURMSER, 1926. — Sur le potentiel de réduction du noyau et les oxydations cellulaires. — *C. R. Soc. Biol. t.* 94, *p.* 989.

RAPKINE ET WURMSER, 1926. — Sur le potentiel de réduction des cellules. — *C. R. Soc. Biol. t.* 95, *p.* 604.

ROSE, M., et HAMON, M., 1937. — Sur la déhiscence de quelques spermatophores de Crustacés décapodes. — *C. R. Ac. Sc. t.* 204, *p.* 149.

ROSE, M., et HAMON, M., 1937. — Influence de quelques diastases sur la déhiscence des spermatophores de Pagurides. — *C. R. Soc. Biol. t.* 124, *p.* 555.

ROSE, M., et HAMON, M., 1937. — Sur les conditions physico-chimiques de l'éclatement et de la déhiscence des spermatophores de Céphalopodes. — *C. R. Ac. Sc. t.* 204, *p.* 898.

ROSE, M., et HAMON, M., 1937. — Influence de quelques diastases et macérations d'organes sur la déhiscence et l'éclatement des spermatophores de quelques Céphalopodes. — *C. R. Soc. Biol. t.* 124, *p.* 1317.

SCHMIEDEBERG, O., 1920. — Ueber die Beziehungen des Hyaloidins zu der Bildung der Chondroitinschwefelsaüre, des Collagens u. des Amyloids im Organismus. — *Arch. f. exp. Path. u. Pharm. t.* 87, *p.* 47.

SCHULZE et KUNIKE, 1923. — Microchimie des substances de soutien des animaux. — *Biol. Zentralbl. t.* 43, *pp.* 556-559.

SEIFRIZ, 1938. — Protoplasm, *NEW-YORK.*

SPEAKMAN., 1933. — Reactivity of the sulphur linkage in wool. — *Nature,* T. 132., p. 930.

STEINHAUS, 1892. — *Arch. f. Anat. u. Phys. Suppl. Physiol. Abt. p.* 54.

STEWARD, F. C., 1932. — The absorption of solutes by living plant cells. — *Protoplasma, t.* 15, *p.* 29.

SUSAETA, 1926. — Eclatement des spermatozoïdes des Crustacés Décapodes. — *Bull. Biol. t.* 60, *p.* 113.

SUSAETA, 1927. — L'influence du pH sur les changements osmotiques cellulaires. — *Bull. Biol. Fr.* et *Belg. t.* 61, p. 143.

SUSAETA. 1929. — *Protoplasma.*

TAYLOR, I. R., BIRNIE, MITCHELL, 1934. — Hydrogen ion activity changes in *Galleria mellonella* during metamorphosis, as determined by a glass electrode with microvessel. — *Physiol. Zool. VII,* 593.

THELOHAN, P., 1895. — Recherches sur les Myxosporidiens. — *Bull. Sc. France et Belg. t.* 26, *p.* 100.

THOMAS, P., 1936. — Manuel de Biochimie. — *PARIS, Masson.*

TIMMEL, 1928. — *Protoplasma, t.* 3, *p.* 197.

TURCHINI et BROUSSY, 1932, — Sur la fluorescence de certains phanères cutanés. — *Bull. Ac. Sc. et Let.. Montpel.*

TURCHINI et BROUSSY, 1938. — Nature histochimique des granulations des glandes de l'oviducte de la Poule et formation de l'ovokératine. — *Arch. Anat. Micr. t.* 34, *p.* 147.

TUZET, O., et MILLOT, J., 1937. — Recherches sur la spermiogenèse des Ixodes. — *Bul. Biol. Fr. et Belg. t.* 71, *p.* 190.

VERNE, J., 1939. — Répartition, signification et métabolisme du calcium dans l'organisme. — *Sciences, Ass. fr. Av. Sc.* 66e *ann. p.* 379.

VIALLETON, L., 1885. — Sur la fécondation chez les Céphalopodes. — *C. R. Acad. Sc. t.* 101, *p.* 619.

VIALLETON, L., 1885. — Sur la membrane buccale des Céphalopodes. — *C. R. Acad. Sc. t.* 100.

VIALLETON, L., 1888. — Recherches sur les premières phases du développement de la Seiche. — *Ann. Sc. N.* (7) *V.* 6.

VIGIER, P., 1901. — Les pyrénosomes (parasomes), dans les cellules de la glande digestive de l'Ecrevisse. — *C.R. Ass. Anat.* 3e *Sess. LYON.*

VOGTLIN et THOMSON, 1926. — Glutathione contents of tumor animals. — *Jour. Biol. Chem. t.* 70. *p.* 801.

VOLKONSKY, M., 1933. — Digestion intracellulaire et accumulation des colorants acides. Etude cytologique des cellules sanguines des Siponculidés. — *Bull. Biol. France et Belgique, t.* 67, *p.* 135.

WAELE, A de., 1933. — Recherches sur les migrations des Cestodes. — *Ac. Roy. Belgique, Bull. Cl. des Sciences* (5) *XIX. t.* 48, *p.* 837.

WAELE, A de., 1934. — Etude de la fonction biliaire dans le phénomène de l'évagination chez les cysticerques des Cestodes. — *Ann. Par. Hum. et comp. XII,* 492, 510.

WEILL, R., 1927. — Structure et fonctionnement du spermatophore de *Sepiola atlantica.* — *Bull. Biol. de France et Belgique, t.* 61, *p.* 59.

WEILL, R., 1934. — Contribution à l'étude des Cnidaires et de leurs nématocystes. — *Thèse, PARIS.*

WINIWARTER, H. de., 1925. — Sécrétion nucléaire dans le canal déférent humain. — *La Cellule, t.* 36., *p.* 291.

WINTREBERT, P., 1934. — Le mécanisme de formation des coques vides et l'influence de l'œuf sur la constitution de ses enveloppes chez un Sélacien, *Scyliorhinus canicula* L. GILL. — *C. R. Soc. Biol. t.* 117, *p.* 664.

YOUNG, E. G. et INMAN, W. R., 1938. — The protein of the casing of salmon eggs. — *Jour. Biol. Chem. t.* 124, *p.* 189.

EXPLICATION DE LA PLANCHE I.

Fig. I. A et B. Spermatophores d'*Eupagurus prideauxi* dans le bleu de toluidine, montrant la suture. G = 320 environ.

Fig. 2. Spermatophore d'*E. prideauxi* dans le mucus du canal déférent. G. = 160 environ.

Fig. 3. Spermatophore du même dans HCl centinormal. G. = 160 environ.

Fig. 3 bis. Spermatophores du même dans NaOH N/10 après un séjour dans l'eau de mer. G. = 160 environ.

Fig. 4. Éclatement en nuage dans la soude centinormale. G. = 160 environ.

Fig. 5. Éclatement en boudin dans NaOH N/100. G. = 160 environ.

Fig. 6. Spermatophores dans la potasse à 40 %. G. = 65.

Fig. 7. Spermatophores dans l'eau de mer. G. = 160 environ.

Fig. 8. Éclatement d'un spermatophore dans une macération de foie d'*E. prideauxi*.

Fig. 9. Spermatophores de *Diogenes pugilator* dans l'eau de mer. G. = 160 environ.

Fig. 10. Spermatophore de *D. pugilator* dans l'acide chlorhydrique après passage dans l'eau de mer. G. = 160 environ.

EXPLICATION DE LA PLANCHE II

Fig. 1. Spermatophore de *Pagurus callidus* dans NO^3H concentré, montrant la suture. G. = 150 environ.

Fig. 2. Spermatophores de *P. arrosor* dans l'eau de mer. G. = 100 environ.

Fig. 3. Spermatophore de *Paguristes oculatus*, dans l'eau distillée. G. = 400 environ.

r. a. = réservoir accessoire.

Fig. 4. Spermatophores de *P. oculatus* dans l'acide chlorhydrique concentré. G. = 200.

Fig. 5. Spermatophores de *P. callidus dans* NO^3H concentré. G. = 150 environ.

Fig. 6. Spermatophores de *P. callidus* éclatant dans NaOH N/10. G. = 100 environ.

Fig. 7. Spermatophores de *P. callidus* dans la potasse à 40 %. G. = 65.

Fig. 8. Spermatophores de *P. oculatus* dans HCl N/100. G. = 200.

Fig. 9. Les mêmes spermatophores dans la soude N/100 après le passage dans l'acide. G. = 200

Fig. 10. Spermatophores de *P. arrosor* dans HCl N/100. G. = 100 environ.

Fig. 11. Les mêmes spermatophores dans NaOH N/100 après le passage dans l'acide. G. = 100 environ.

Fig. 12. Spermatophores de *P. arrosor* dans le mucus du canal déférent. G. = 100 environ.

Fig. 13. Spermatophores du même animal dans l'eau de mer. G. = 100 environ.

Fig. 14. Spermatophores de *P. callidus* dans l'eau de mer et soumis à l'action des vapeurs de sulfhydrate d'ammonium. G. = 100 environ.

TABLE DES MATIÈRES

Avant-propos. VII

Introduction. XI

Première Partie : LE SPERMATOPHORE DES PAGURIDES.

Chapitre I. Le spermatophore d'Eupagurus prideauxi a l'état statique.. 1

1) *Morphologie générale* 1

Structure externe. 1
Structure interne. 2
Pression à l'intérieur du spermatophore 3
Valeur du pH du spermatophore et du canal déférent 5

2) *Composition chimique du spermatophore*. 7

Historique 7

Méthodes employées 8
Examen direct du spermatophore entier dans les réactifs. 8
Hydrolyse des substances à analyser. 9
Hydrolyse acide et alcaline. Hydrolyse enzymatique. 9
Analyse des constituants du spermatophore. 11
Le groupement protidique. Le groupement prosthétique. 11

Chapître II. Le spermatophore d'E. prideauxi a l'état dynamique 18

Historique. 18

1) *Déhiscence expérimentale du spermatophore*. 19

Méthodes employées 20
Modifications expérimentales du milieu. 21

1. Role du pH des solutions 21
Actions des ions H+. Action des ions OH—. Actions successives des ions H+ et OH—. 21
2. Rôle de la pression osmotique. 32
Eau de mer. Solutions salines à diverses concentrations. Eau distillée. 33
3. Rôle des cations. 37
Chlorures de K, Na, Mg, Ca, isotoniques avec l'eau de mer 39
Effet des cations sur les déhiscences produites par la soude .. 39
4. Rôle des oxydants. 46
Permanganate de potasse. Hypochlorite de soude. 47
5. Rôle des réducteurs. 48
Hydrogène sulfuré. Sulfure d'ammonium. 48
6. Rôle des ferments digestifs. 51
Diastases d'Invertébrés. Diastases de Vertébrés. 52
7. Macérations des organes génitaux femelles 55

2) *Les mécanismes de la déhiscence expérimentale des spermatophores*.. 55

1. Généralités 55
2. Ouverture par dissolution du ciment de la suture..... 55
3. Ouverture par accroissement de la pression interne de l'ampoule. 56
4. Ouverture par action combinée des deux facteurs précédents... 57

3) *La déhiscence naturelle des spermatophores*. 57

Déterminisme de l'expulsion et du transport des spermatophores. 58

Chapitre III. LE SPERMATOPHORE CHEZ DIVERS PAGURIDES. 61

Généralités. 61

a) *Le spermatophore à l'état statique*. 62

1) *Morphologie générale*. 62

Structure externe. 62
Structure interne. 66
Valeur du pH des spermatophores et des canaux déférents. 67

2) *Composition chimique des spermatophores*. 68

Examen direct du spermatophore entier dans les réactifs. 68
Hydrolyse des substances à analyser. 69
Hydrolyse chimique. Hydrolyse enzymatique. 69
Analyse des constituants du spermatophore. 69
Le groupement protidique. Le groupement prosthétique 69

b) *Le spermatophore à l'état dynamique*. 72

Historique. 72

1) *Déhiscence expérimentale du spermatophore*. 72

Méthodes employées. 72
Modifications expérimentales du milieu. 73

1. Rôle du pH des solutions. 73
Action des ions H+. Action des ions OH–. Actions successives des ions H+ et OH–, sur les spermatophores 73
2. Rôle de la tension osmotique des solutions 82
3. Rôle des cations dans les solutions 83
Action des chlorures alcalins et alcalino-terreux en solutions isotoniques avec l'eau de mer. Effet des cations sur les déhiscences produites par la soude. 83
4. Action des solutions oxydantes. 87
5. Rôle des substances réductrices 87
Action du sulfure d'ammonium et d'H^2S en solution. 88
Action du gaz sulfhydrique et des vapeurs de $(NH^4)^2S$. 88
6. Action des ferments digestifs. 89
Diastases d'Invertébrés. Diastases de Vertébrés..... 89
7. Produits de macération des organes génitaux femelles..... 90

2) *Les mécanismes de la déhiscence expérimentale* 91

3) *La déhiscence naturelle des spermatophores*. 91

Chapitre IV. HISTOPHYSIOLOGIE DU CANAL DÉFÉRENT D'E. PRIDEAUXI..... 92

Introduction. 92
Méthodes utilisées. 93

Fixations. Coupes. Colorations 93
Topographie du conduit. Formation et modelage des spermatophores 95
Histologie et cytologie du canal déférent 99
Les processus sécrétoires des éléments glandulaires 113
Résumé de la première partie 119

Deuxième partie : LE SPERMATOPHORE DES CÉPHALOPODES.

Chapitre I. LE SPERMATOPHORE DES CÉPHALOPODES A L'ÉTAT STATIQUE 123

Généralités 123

1) Introduction 123
2) Les espèces étudiées 125
3) Méthodes employées 126

Le spermatophore à l'état statique 127

1) Morphologie générale 127

Pression à l'intérieur du spermatophore 131
Valeur du pH du spermatophore et du tractus génital 132

2) La composition chimique des spermatophores 134

Examen direct du spermatophore entier dans les réactifs 134
Hydrolyse des substances à analyser 134
Hydrolyse acide et alcaline. Hydrolyse enzymatique 134
Analyse des constituants du spermatophore 135
Le groupement protidique. Le groupement prosthétique 135

Chapitre II. LE SPERMATOPHORE DES CÉPHALOPODES A L'ÉTAT DYNAMIQUE 138

1) *Les mécanismes de la déhiscence des spermatophores* 138

Déhiscence par dévagination 138
Déclenchement de la déhiscence Formation d'un spermatange 139
Déhiscence par rupture de l'étui 140

2) *Dehiscence expérimentale* 141

Modifications expérimentales du milieu 141
1. Rôle du pH des solutions 141
Action des ions H+. Action des ions OH–. Actions successives des ions H+ et OH– 141
2. Rôle de la tension osmotique des solutions 145
Comportement des spermatophores soumis à une pression osmotique égale à celle de l'eau de mer. Comportement des spermatophores dans l'eau distillée 145
3. Rôle de la viscosité des solutions 146
4. Rôle des cations dans les solutions 146
Action des chlorures alcalins et alcalino-terreux en solution isotoniques avec l'eau de mer. Action de l'eau de mer et des chlorures isotoniques dilués. Effet des cations sur les déhiscences ces produites par sa soude. Action de l'eau de mer sans calcium
Action de l'eau de mer acide 146
5. Action de solutions oxydantes 149
6. Rôle de substances réductrices 149
Action du sulfure d'ammonium en solution. Actions du gaz sulfhydrique et des vapeurs de sulfure d'ammonium 149
7. Action des ferments digestifs 150
Diastases d'Invertébrés. Diastases de Vertébrés 150
8. Action de macérations d'organes génitaux 152

Résumé de la deuxième partie. 154

Troisième partie : CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES SUR LES SPERMATOPHORES

Chapitre I. COMPARAISON GÉNÉRALE DES SPERMATOPHORES DANS LES DEUX GROUPES ÉTUDIÉS 157

1) *Comparaison morphologique.* 157

2) *Comparaison chimique.* 159

3) *Comparaison physiologique.* 160

4) *Comparaison histologique.* 161

Chapitre II. ORIGINE ET ROLE DES SPERMATOPHORES. 164

1) *Origine et rôle des spermatophores.* 164

Distribution du spermatophore dans le règne animal. 166

2) *Comparaison du spermatophore et de l'œuf.* 166

3) *Comparaison des spermatophores avec les nématocystes et avec les spores de cnidosporidies.* 168

1. Comparaison morphologique. 169
2. Comparaison du mode de fonctionnement normal. 169
3. Comparaison des propriétés physiologiques dans les conditions tions expérimentales 169
4. Comparaison des rôles des divers organites. 170

Résumé général et conclusions. 171

Bibliographie 175

VU ET APPROUVÉ

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

L. Royer.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER

Alger, le 2 *Mars* 1942.

Le Recteur de l'Académie d'Alger,

G. Hardy.